

Université de Montréal

**L'amélioration de la performance et de la structure
cardiaque par la moxonidine chez les SHR est
accompagnée d'une diminution des cytokines, de la
MAPK p38 et de l'Akt.**

par

Georges Farah

Département de pharmacologie, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de Maîtrise

en Pharmacologie

option cardiovasculaire

Décembre, 2010

© Georges Farah, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

L'amélioration de la performance et de la structure cardiaque par la moxonidine chez les SHR est accompagnée par une diminution des cytokines, de la MAPK p38 et de l'Akt.

présenté par :
Georges Farah

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Nicolas Noiseux, président-rapporteur
Dre. Suhayla Mukaddam-Daher, directeur de recherche
Dr. Guy Rousseau, membre du jury

Résumé

L'hypertrophie du ventricule gauche (HVG) est un processus adaptatif et compensatoire qui se développe conséquemment à l'hypertension artérielle pour s'opposer à l'élévation chronique de la pression artérielle. L'HVG est caractérisée par une hypertrophie des cardiomyocytes suite à l'augmentation de la synthèse d'ADN, une prolifération des fibroblastes, une augmentation du dépôt de collagène et une altération de la matrice extracellulaire (MEC). Ces changements génèrent des troubles de relaxation et mènent au dysfonctionnement diastolique, ce qui diminue la performance cardiaque. La suractivité du système nerveux sympathique (SNS) joue un rôle essentiel dans le développement de l'hypertension artérielle et de l'HVG à cause de la libération excessive des catécholamines et de leurs effets sur la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et sur les différentes voies de signalisation hypertrophiques et prolifératives. Le traitement antihypertenseur avec de la moxonidine, un composé sympatholytique d'action centrale, permet une régression de l'HVG suite à une réduction soutenue de la synthèse d'ADN et d'une stimulation transitoire de la fragmentation de l'ADN qui se produit au début du traitement. En raison de l'interaction entre l'HVG, les cytokines inflammatoires, le SNS et leurs effets sur les protéines de signalisation hypertrophiques, l'objectif de cette étude est de détecter dans un modèle animal d'hypertension artérielle et d'HVG, les différentes voies de signalisation associées à la régression de l'HVG et à la performance cardiaque. Des rats spontanément hypertendus (SHR, 12 semaines) ont reçu de la moxonidine à 0, 100 et 400 µg/kg/h, pour une période de 1 et 4 semaines, via des mini-pompes osmotiques implantées d'une façon sous-cutanée. Après 4 semaines de traitement, la performance cardiaque a été

mesurée par écho-doppler. Les rats ont ensuite été euthanasiés, le sang a été recueilli pour mesurer les concentrations des cytokines plasmatiques et les cœurs ont été prélevés pour la détermination histologique du dépôt de collagène et de l'expression des protéines de signalisation dans le ventricule gauche. Le traitement de 4 semaines n'a eu aucun effet sur les paramètres systoliques mais a permis d'améliorer les paramètres diastoliques ainsi que la performance cardiaque globale. Par rapport au véhicule, la moxonidine (400 µg/kg/h) a permis d'augmenter transitoirement la concentration plasmatique de l'IL-1β après une semaine et de réduire la masse ventriculaire gauche. De même, on a observé une diminution du dépôt de collagène et des concentrations plasmatiques des cytokines IL-6 et TNF-α, ainsi qu'une diminution de la phosphorylation de p38 et d'Akt dans le ventricule gauche après 1 et 4 semaines de traitement, et cela avec une réduction de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque. Fait intéressant, les effets anti-hypertrophiques, anti-fibrotiques et anti-inflammatoires de la moxonidine ont pu être observés avec la dose sous-hypotensive (100 µg/kg/h). Ces résultats suggèrent des effets cardiovasculaires bénéfiques de la moxonidine associés à une amélioration de la performance cardiaque, une régulation de l'inflammation en diminuant les niveaux plasmatiques des cytokines pro-inflammatoires ainsi qu'en inhibant la MAPK p38 et Akt, et nous permettent de suggérer que, outre l'inhibition du SNS, moxonidine peut agir sur des sites périphériques.

Mots-clés : Hypertrophie du ventricule gauche, hypertension, remodelage cardiaque, système nerveux sympathique, moxonidine, SHR, cytokines, MAPKs, Akt.

Abstract

Left ventricular hypertrophy (LVH) is an adaptive and compensatory process that develops in hypertension to oppose the chronic elevation of blood pressure. LVH is characterized by hypertrophy of cardiomyocytes following the increase in DNA synthesis, proliferation of fibroblasts, increased collagen deposition and alteration of the extracellular matrix (ECM). These changes generate relaxation and diastolic dysfunction which reduced cardiac performance. The overactivity of the sympathetic nervous system plays an essential role in the development of hypertension and left ventricular hypertrophy pathogenesis due to the excessive release of catecholamines and norepinephrine spillover and their effects on the secretion of pro-inflammatory cytokines and hypertrophic signaling pathways. Antihypertensive treatment with moxonidine, a centrally acting sympatholytic imidazoline compound, results in prevention of left ventricular hypertrophy, resulting from a sustained reduction of DNA synthesis and transient stimulation of DNA fragmentation that occur early after treatment. Due to the interaction between LVH, inflammatory cytokines, the SNS and their effects on hypertrophic signaling proteins, the objective of this study is to detect in an animal model of hypertension and LVH, the different signaling pathways associated with regression of LVH and cardiac performance. Spontaneously hypertensive rats (SHR, 12 weeks old) received moxonidine at 0, 100 and 400 $\mu\text{g/kg/h}$, for 1 and 4 weeks, via subcutaneously implanted osmotic minipumps. After 4 weeks of treatment, cardiac performance was measured by echo-Doppler. Then the rats were euthanized, blood was collected for measurement of plasma cytokines and hearts for histologic determination of collagen deposition and for measurement of left ventricular expression of downstream

signaling proteins. Treatment for 4 weeks had no effect on systolic parameters but improved diastolic parameters and global cardiac performance. Compared to vehicle, moxonidine (400 $\mu\text{g/kg/h}$) transiently increased plasma IL-1 β after 1 week and reduced left ventricular mass. Similarly, there was a decrease in collagen deposition and plasma concentrations of IL-6 and TNF- α , and decreased phosphorylation of p38 and Akt in the left ventricle after 1 and 4 weeks treatment, in association with reduced blood pressure and heart rate. Interestingly, the anti-hypertrophic, anti-fibrotic, and anti-inflammatory effects of moxonidine were observed with a sub-hypotensive dose (100 $\mu\text{g/kg/h}$). These results suggest the beneficial cardiovascular effects of moxonidine associated with improved cardiac performance, regulation of inflammation by decreasing pro-inflammatory plasma levels, inhibition of p38 MAPK and Akt, and allow us to suggest that besides inhibiting the SNS, moxonidine may act on peripheral sites.

Keywords: Hypertension, Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling, Sympathetic nervous system, moxonidine, SHR, cytokines, MAPKs, Akt.

Table des matières

Résumé	i
Abstract	iii
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des abréviations :	ix
1. Hypertrophie cardiaque	1
1.1. Description :	1
1.2. Bases moléculaires de l'hypertrophie cardiaque:	3
2. Pression artérielle	21
2.1. Description :	21
2.2. Les systèmes impliqués dans la régulation de la pression artérielle :	21
2.2.1. Le système rénine angiotensine aldostérone :	22
2.2.2. Le système nerveux sympathique :	25
2.3. Hypertension :	30
2.3.1. Les systèmes impliqués :	31
2.3.2. Rôle du SNS dans la pathogenèse de l'hypertension :	31
2.3.3. Les pathologies associées à l'hypertension :	33
3. Le traitement de l'hypertension :	34
3.1. Les agents sympatholytiques :	35
3.2. Moxonidine :	38
4. Hypothèses et objectifs :	40
Matériel et méthodes	43
6. Manipulations des animaux	43
7. Mesure de dépôt de collagène :	45
8. Mesure des cytokines plasmatiques:	45
9. Western Blot :	46
10. Statistiques :	47
Résultats	48

I.	Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM) :	48
II.	Mesure de la fréquence cardiaque :	49
III.	Mesure de l'hypertrophie du ventricule gauche :	50
IV.	Mesure de la surface des cardiomyocytes :	51
V.	Mesure du dépôt de collagène :	52
VI.	L'expression protéique de l' α -SMA :	53
VII.	Les concentrations plasmatiques des cytokines pro-inflammatoires :	54
VIII.	Mesure de l'expression protéique des différentes protéines de signalisation :	57
IX.	Paramètres échocardiographiques :	59
	Discussion	63
	Conclusion et perspectives	70
	Bibliographie	I

Liste des tableaux

Tableau I. Mesure des paramètres physiques..... 50

Tableau II : Mesures échocardiographiques après quatre semaines de traitement. 61

Liste des figures

Figure 1. La voie de signalisation classique des récepteurs β -1 et β -2 adrénergiques.....	6
Figure 2. La transition de l'hypertrophie du ventricule gauche à la défaillance cardiaque. ...	7
Figure 3. La voie de signalisation des récepteurs α -1 adrénergiques.....	9
Figure 4. Le système rénine angiotensine.....	24
Figure 5. Libération des catécholamines par les neurones adrénergiques et localisation des récepteurs adrénergiques.....	26
Figure 6. La voie de biosynthèse des catécholamines.....	28
Figure 7. Les différentes pathologies associées à la suractivité du système nerveux sympathique.	33
Figure 8. La structure du noyau imidazole et la structure de la moxonidine, un agoniste sélectif des récepteurs aux imidazolines (RI_1).	37
Figure 9. Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM).	48
Figure 10. Mesure de la fréquence cardiaque (FC) sous anesthésie.	49
Figure 11. Coupes transversales des cœurs et mesures de la surface des cardiomyocytes. .	51
Figure 12. Coupes histologiques et mesures du dépôt de collagène.....	52
Figure 13. L'expression protéique du marqueur phénotypique des myofibroblastes.	53
Figure 14. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β	54
Figure 15. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire IL-6.....	55
Figure 16. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α	56
Figure 17. L'expression protéique de P-Akt (Ser473) suite au traitement chronique par moxonidine.....	57
Figure 18. L'expression protéique P-p38 suite au traitement chronique par moxonidine. ..	58
Figure 19 : Mesures échocardiographiques des paramètres diastoliques.....	59

Liste des abréviations :

ADH : Hormone antidiurétique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGT : Angiotensinogène

Akt : protéine kinase de type B ou PKB

α -SMA : actine du muscle lisse de type α

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ANF : Facteur natriurétique auriculaire

Ang I : Angiotensine I

Ang II : Angiotensine II

ANP : Peptides natriurétiques auriculaires

ARA : Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ASK1 : kinase de signalisation-régulation-1

AT1 : Récepteurs de l'angiotensine II de type 1

AT2 : Récepteurs de l'angiotensine II de type 2

ATF-2 : Facteur activateur de la transcription de type 2

AVC : Accidents vasculaires cérébrales

BNP : Peptide natriurétique de type B

bpm : Battement par minute

Ca²⁺ : ions calciques

CAMK : Protéine kinase Calmoduline/Ca²⁺ dépendante

CHD : Maladies coronariennes cardiaques

CHF : Défaillance cardiaque congestive

CRP : Protéine C réactive

DA : Dopamine

DAG : diacylglycérol

D β H : Dopamine- β -hydroxylase

E : Épinéphrine

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine

ECL *advance* : *enhanced chemiluminescence substrate*

EDTA: Acide éthylène diamine tétra acétique

ERK : Kinase régulée par le signal extracellulaire

ET : Endothéline

FC : Fréquence cardiaque

FGF : Facteur de croissance des fibroblastes

GAPDH : Glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase

GMPc : Guanosine monophosphate cyclique

gp130 : Glycoprotéine 130

GSK3 β : Kinase de la synthèse du glycogène 3 β

GTP : Guanosine triphosphate

h : Heure

HPS : Hématoxyline-phloxine-safran

HVG : Hypertrophie du ventricule gauche

iECA : Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

IGF : Facteur de croissance apparenté à l'insuline

IL-1 β : Interleukine-1 β

IL-1R : Récepteurs de l'IL-1

IL-6 : Interleukine-6

IP₃ : Inositol 1, 4, 5-triphosphate

IL-6R : Récepteurs de l'interleukine-6

JNK : Kinase NH₂-terminale c-jun

K⁺ : Ion potassique

L-DOPA : L-Dihydroxyphénylalanine

MAPK : *Mitogen activated protein Kinase*

MEF-2 : Facteur renforceur myocytaire-2

mg : milligramme

μ g : microgramme

μ L : microlitre

μ m² : micromètre carré

mm/Hg : millimètre de mercure

MMP : Protéinases métalliques de la matrice

mTOR: *mammalian target of Rapamycin*

MVG : Masse du ventricule gauche

Na⁺ : Ion sodique

NaCl : Chlorure de Sodium

NaF : Fluorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NE : Norépinephrine

NF κ B : Facteur de transcription nucléaire Kappa B

NO : Monoxyde d'azote

NOS : Synthase de l'oxyde nitrique

NP-40 : Nonidet P-40

PA : Pression artérielle

PAM : Pression artérielle moyenne

PE : Phényléphrine

PIP₂ : phosphatidylinositol 4,5-diphosphate

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase

PKA : Protéine Kinase de type A

PKB : protéine kinase de type B

PKC : Protéine kinase de type C

PLA₂ : Phospholipase de type A₂

PLC : Phospholipase de type C

PLD : Phospholipase de type D

PMSF: fluorure de phenylmethanesulphonylfluoride

PNMT : Phényléthanolamine *N*- méthyltransférase

RI₁ : Récepteurs aux imidazoles de type 1

ROCK : Kinases associés à Rho

RTK : Récepteurs Tyrosines Kinases RCPG : Récepteurs couplés à la protéine G

RVLM : médulla rostro ventro latérale

SAPK : Protéines kinases qui répondent au stress

SHR : Rats spontanément hypertendus

SNC : Système nerveux central

SNS : Système nerveux sympathique

SR : Glandes surrénales

SRAA : Système rénine-angiotensine-aldostérone

TBS-Tw : Tampon salin de tris – Tween

TGF- β : Facteur de croissance transformant de type β

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale de type α

TNFR1 : Récepteurs du facteur de nécrose tumorale de type-1

TNFR2 : Récepteurs du facteur de nécrose tumorale de type-2

VG : ventricule gauche

WKY : Rats Wistar Kyoto

*À ma cousine, la belle, la championne et la
lutteuse qui a survécu à 2 accidents
vasculaires cérébraux en moins de deux
années à l'âge de 14 ans.*

*Ce mémoire est dédié à deux personnes, qui
sont la raison d'être de ce travail: Ma mère
Claude et mon père Tanios Farah*

Remerciements

J'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de recherche, Dre. Suhayla Mukaddam-Daher, pour toute l'aide qu'elle m'a apportée, pour sa patience et son encouragement à finir le travail.

Ensuite je tiens à remercier le Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM) et mes professeurs à l'Université de Montréal pour leur encadrement.

Un grand merci à mes collègues et membres du labo de Dre. Daher. Merci pour tout à Henry, Malek et Nadim!

Je tiens à remercier les membres de mon jury : Dr. Nicolas Noiseux et Dr. Guy Rousseau d'avoir pris le temps de lire mon document et de m'avoir donné les meilleurs conseils.

Un grand merci à ma famille au Liban qui m'a supporté et encouragé tout le long du chemin. Un merci spécial à ma tante et mon oncle Mme Arlette et Mr. Costa Issid car sans leur support exceptionnel je n'aurais pas fini ce mémoire.

Introduction

1. Hypertrophie cardiaque

1.1. Description :

L'hypertrophie cardiaque est un prédicteur majeur des maladies du cœur et des pronostics défavorables. L'hypertrophie cardiaque est reconnue comme un processus adaptatif à des conditions physiologiques et pathologiques variables. L'hypertrophie du cœur est souvent associée à des maladies telles que l'ischémie, l'hypertension artérielle et la défaillance cardiaque (Ho et al., 1998). Ces différentes maladies induisent une croissance des cardiomyocytes qui est caractérisée par une augmentation de la synthèse protéique et un changement de l'organisation de la structure sarcomérique bien qu'initialement, l'hypertrophie cardiaque joue un rôle compensatoire qui essaye de s'opposer à la surcharge de pression et de volume, d'optimiser le stress biochimique qui en résulte et de normaliser la fonction cardiaque. Une hypertrophie prolongée peut éventuellement mener au dysfonctionnement diastolique, à une cardiomyopathie dilatée, à des arythmies, des maladies fibreuses, une défaillance cardiaque et même à la mort subite (Aaronson and Sackner-Bernstein, 2006; Dorn et al., 2003).

L'hypertrophie est souvent associée à un affaiblissement de la vascularisation du myocarde, à des changements défavorables dans la composition de la matrice extracellulaire et à une fibrose. Les cardiopathies hypertensives engagent des changements dans la structure et la fonction cardiaque y compris l'hypertrophie des myocytes et l'apoptose, l'ischémie, la fibrose interstitielle, aboutissant finalement à une déficience de la performance cardiaque et de la relaxation myocardique, coronarienne et hémodynamique.

Ces changements impliquent toutes les composants du cœur et cela incluant les cardiomyocytes, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les protéines de la matrice extracellulaire, le collagène fibrillaire et les vaisseaux coronariens (Susic, 2007). Notamment, au niveau moléculaire, l'hypertrophie cardiaque est caractérisée par une activation de l'expression des gènes du profil de la vie fœtale, comme l'ANP, les chaînes lourdes de la myosine- β et de l'actine- α (Nadal-Ginard et al., 2003; Passier et al., 2000).

La croissance hypertrophique pathologique développe un de ces deux aspects:

i. Hypertrophie concentrique :

L'hypertrophie concentrique est due à une surcharge de pression chronique dans laquelle l'augmentation de la longueur des myocytes est inférieure à l'augmentation de la largeur des myocytes. Ce type d'hypertrophie conduit à une diminution du volume ventriculaire gauche et à une augmentation de l'épaisseur de la paroi du myocarde (Rohini et al., 2010).

ii. Hypertrophie excentrique :

L'hypertrophie excentrique est due à une surcharge volumique dans laquelle l'augmentation de la longueur des myocytes est supérieure à l'augmentation de la largeur des myocytes. Ce type d'hypertrophie conduit à la dilatation et à l'amincissement de la paroi cardiaque (Rohini et al., 2010).

1.2. Bases moléculaires de l'hypertrophie cardiaque:

L'hypertrophie cardiaque implique la croissance excessive des myofibres individuelles. Cette croissance est déclenchée suite à une charge mécanique accrue (comme dans le cas de l'hypertension chronique) ou à une baisse de la performance mécanique (comme dans le cas des lésions ischémiques) (Sadoshima et al., 1992). La croissance hypertrophique des cellules myocardiques est caractérisée par des changements phénotypiques comme: une induction rapide des proto-oncogènes (c-fos, c-jun, c-myc) et des gènes des protéines chaperons (hsp70), une expression qualitative et quantitative des gènes et une augmentation de la fréquence de la synthèse protéique. Différentes approches intégratives ont identifié des dizaines de ligands, de récepteurs et d'amplificateurs de signaux cytoplasmiques et des effecteurs transcriptionnels de l'hypertrophie des cardiomyocytes. L'hypertrophie cardiaque peut résulter d'une interaction entre différentes voies de transduction du signal telle que la voie des récepteurs tyrosines kinases (RTKs), la voie des MAPKs (mitogen activated protein kinase) et leurs activateurs, l'activation de la phospholipase C, D et A2 (PLC, PLD et PLA2), la protéine kinase C (PKC) et d'autres molécules. La libération de neurohormones ou la liaison de ligands à des récepteurs spécifiques comme les récepteurs adrénergiques, les récepteurs de l'Ang II et de l'ET-1, les récepteurs des cytokines pro-inflammatoires, les récepteurs tyrosines kinases et la voie JAK (Janus Associated Kinase) etc. évoque l'activation de plusieurs cascades d'événements qui résultent en une augmentation de l'expression des gènes hypertrophiques (Chien, 2000).

i. Le rôle des récepteurs adrénergiques :

Les cardiomyocytes expriment les récepteurs β -1 et β -2 adrénergiques et les récepteurs α - (1A, 1B, 1C) adrénergiques (Rokosh et al., 1996) mais n'expriment pas les récepteurs α -2 adrénergiques (Benfey, 1990). En se basant sur le nombre des récepteurs, les cardiomyocytes expriment plus de récepteurs β -1 adrénergiques que de récepteurs β -2 adrénergiques. Les récepteurs β -1 et β -2 adrénergiques se couplent la protéine Gas et les récepteurs β -2 adrénergiques peuvent également se coupler à la protéine Gai qui peut activer la voie des MAPKs et de la PLA2 (Daaka et al., 1997; Pavoine et al., 1999; Xiao et al., 1995).

Les agonistes β -adrénergiques se couplent à la sous-unité Gas et induisent l'activation de l'adénylate cyclase ce qui résulte en une production de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) et par conséquent l'activation de la protéine Kinase A (PKA). La PKA phosphoryle plusieurs protéines nécessaires à la contraction cardiaque, notamment les canaux calciques de type-L, la troponine et la phospholamban, ce qui résulte en une augmentation de la force de contraction (Marian, 2006).

Les récepteurs α -1 adrénergiques peuvent être couplés à G α q ou Gai et activer la PLC, la PKC, la mobilisation des ions Ca^{2+} , la voie des MAPKs et PI3K/Akt (Haddock and Malbon, 1993; Sugden and Clerk, 1998).

L'exposition des myocytes à des concentrations élevées ou prolongées de catécholamines est toxique (Rona, 1985). Mann et al. (1992) ont démontré que l'exposition

des cardiomyocytes de chats adultes en culture à une concentration de 10^{-6} M de NE pour une durée de 72h induit la mort cellulaire (Mann et al., 1992). Cette mort a été prévenue par un antagoniste des récepteurs β adrénergiques, le propranolol, et non par un antagoniste des récepteurs α -1 adrénergiques, la prazosine. De même, l'exposition des cardiomyocytes de rats nouveaux-nés à un agoniste non-sélectifs des récepteurs β adrénergiques, l'isoprotérénol, pendant 48h augmente l'apoptose (Iwai-Kanai et al., 1999).

In vivo, l'infusion de l'isoprotérénol dans des rats adultes, pour une durée de 12h à 7 jours augmente le taux des cardiomyocytes apoptotiques (Shizukuda et al., 1998). Récemment, il est devenu évident que les sous-types des récepteurs β adrénergiques régulent différemment l'apoptose des myocytes cardiaques. L'apoptose induite par la NE chez les cardiomyocytes de rats adultes est abolie suite à l'utilisation d'un antagoniste sélectif des récepteurs β -1 adrénergiques (CGP-20712A) et est aggravée suite à l'utilisation de l'antagoniste sélectif des récepteurs β -2 adrénergiques (ICI-118551) (Communal et al., 1999). Zaugg et al. (2000) sont arrivés à une conclusion similaire en utilisant une variété d'agonistes et d'antagonistes sélectifs des récepteurs β -1 et β -2 adrénergiques (Zaugg et al., 2000). En utilisant des myocytes isolés du myocarde de souris β -1/ β -2 'double Knock Out' et après transfert de gènes adénoviraux codant pour ces récepteurs séparément, Zhu et al. (2001) ont démontré que la stimulation des récepteurs β -1 adrénergiques et non celle des récepteurs β -2 adrénergiques induit l'apoptose des myocytes cardiaques de souris adultes (Zhu et al., 2001). De plus, la stimulation des récepteurs β -2 adrénergiques inhibe l'apoptose induite par l'ischémie dans des cardiomyocytes de rats nouveau-nés (Chesley et al., 2000).

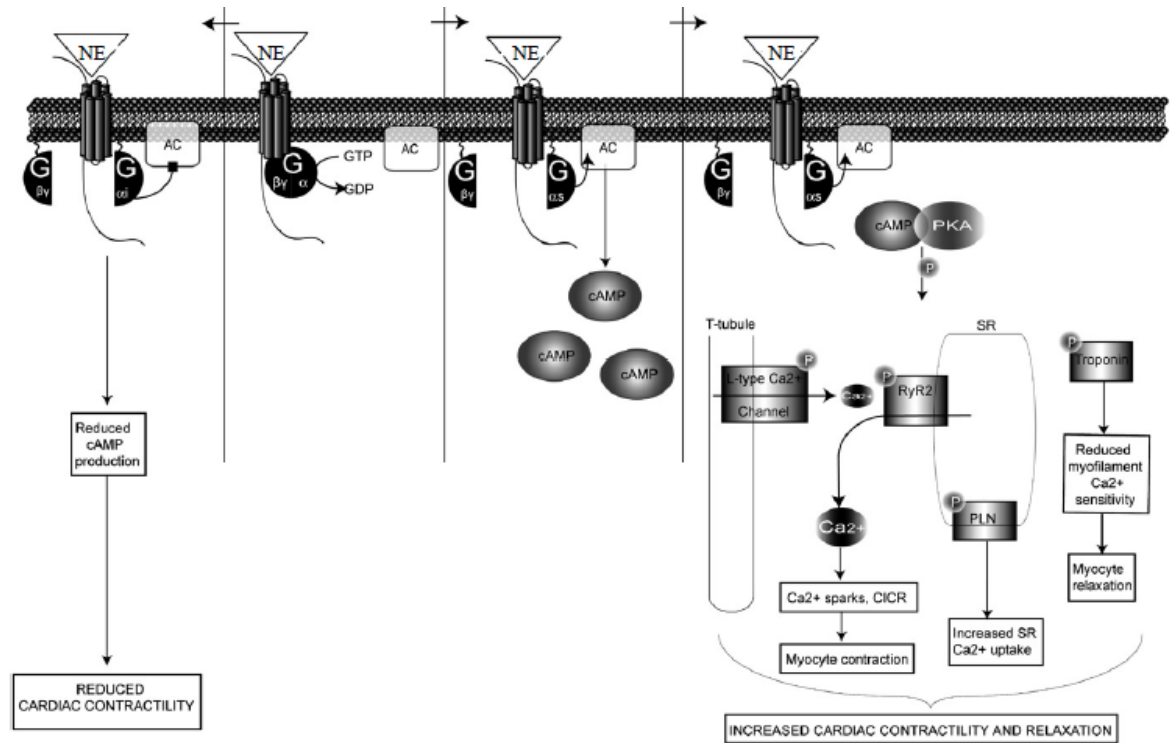


Figure 1. La voie de signalisation classique des récepteurs β_1 et β_2 adrénergiques.

Adaptée de Salazar et al., 2007

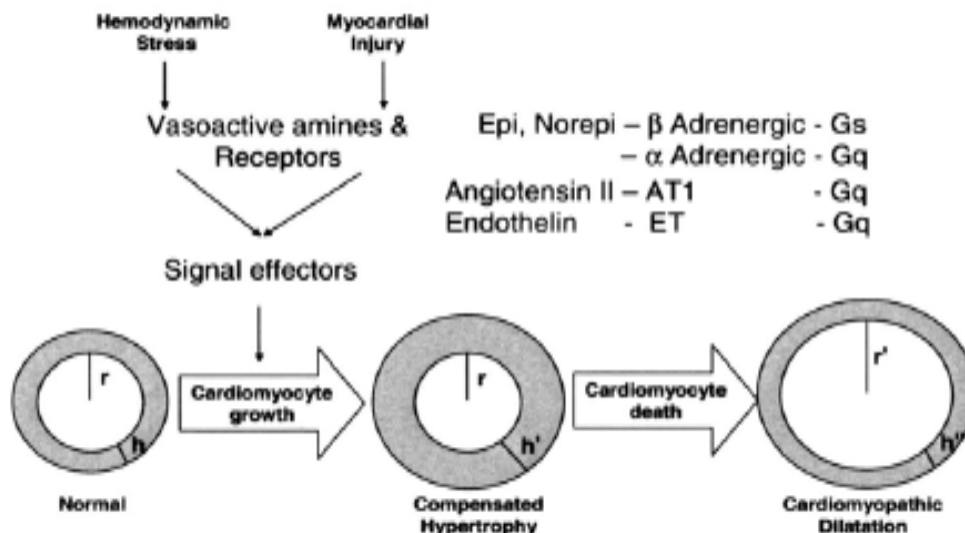


Figure 2. La transition de l'hypertrophie du ventricule gauche à la défaillance cardiaque.

Adaptée de Dorn et al., 2007

Au contraire, la stimulation des récepteurs α adrénergiques ne cause pas l'apoptose et inhibe l'effet apoptotique induit par un agoniste des récepteurs β adrénergiques. La stimulation des récepteurs α -1 adrénergiques cause l'hypertrophie des cardiomyocytes de rats nouveau-nés (Simpson, 1983) et de rats adultes via la MAPK ERK et la PI3K (1999; Schluter et al., 1999). Ce rôle est associé à la sous-unité $G_{\alpha q}$ à laquelle sont couplés les récepteurs α -1 adrénergiques. Les récepteurs α -1 adrénergiques activent la stimulation de la protéine $G_{\alpha q}$ liée à la membrane et sa similaire fonctionnelle G_{11} qui activent la phospholipase C (PLC). La PLC hydrolyse la phosphatidylinositol 4,5- diphosphate (PIP₂) en inositol 1, 4, 5-triphosphate (IP₃) et en diacylglycérol (DAG). L'IP₃ mobilise le Ca^{2+} du réticulum endoplasmique ce qui augmente la concentration calcique intracellulaire (Molkentin and Dorn, 2001) et le DAG active la protéine kinase C (PKC) qui est une étape

primordiale dans le développement de l'hypertrophie concentrique. En effet, l'inhibition de la PKC abolit l'effet hypertrophique médié par les récepteurs α adrénergiques chez les souris (Arimoto et al., 2006). Plusieurs petites protéines-G comme Ras, Rho et Rac sont activées par une variété d'agonistes qui lient des G α q/G11 comme l'angiotensine II (Ang-II), l'ET-1 et la phényléphrine (PE; agoniste α -adrénergiques) ce qui s'avère suffisant pour induire l'hypertrophie (Lezoualc'h et al., 2008; Proud, 2004). L'augmentation soutenue de la concentration du second messenger Ca^{2+} par l'IP3 est encore responsable de l'activation de petites protéines se liant à la GTP. La voie de signalisation de Ras est médiée par des puissants effecteurs pro-hypertrophiques en aval incluant c-Raf qui est la MAP kinase kinase de la cascade de la MAPK ERK. En effet, il a été démontré que les sous-familles des petites protéines-G, comprenant Rho, Ras, et cdc42 régulent l'organisation du cytosquelette des cardiomyocytes et jouent un rôle dans la modulation de la croissance cardiaque en augmentant l'expression des gènes hypertrophiques (Hoshijima et al., 1998). Rho active plusieurs protéines kinases, en particulier les kinases associées à Rho (ROCK) et facilite l'activité transcriptionnelle de GATA4 dans le but de provoquer l'hypertrophie des cardiomyocytes chez les rats (Charron et al., 2001). Plusieurs études in vitro ont démontré que l'activation de la G α q est responsable de l'induction de l'hypertrophie (Adams et al., 1998) et que la voie de signalisation G α q /G11 est essentielle pour l'hypertrophie causée par une surcharge de pression et même pour provoquer une hypertrophie en absence de stress hémodynamique. Ainsi la voie de signalisation G α q paraît être impliquée dans la croissance cardiaque maladaptive.

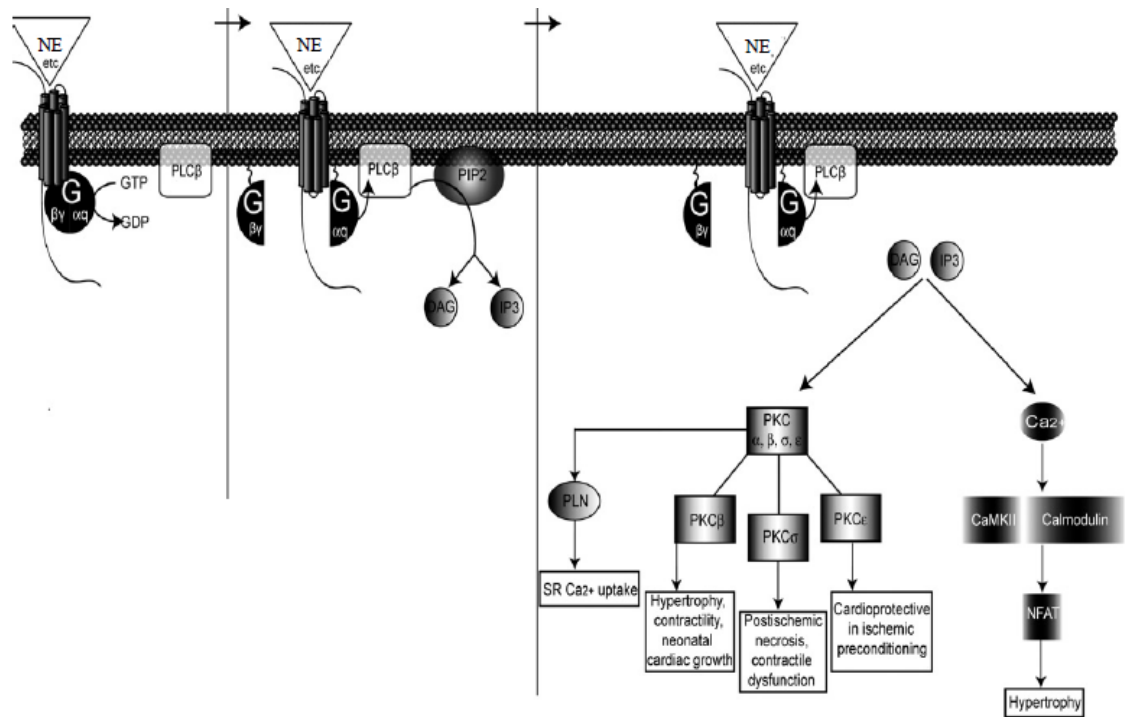


Figure 3. La voie de signalisation des récepteurs α -1 adrénergiques.

Adaptée de Salazar et al., 2007

Les fibroblastes cardiaques expriment les récepteurs β -2 adrénergiques sans exprimer les autres récepteurs adrénergiques tel que les récepteurs β -1 et les récepteurs α adrénergiques ce qui limite le rôle des catécholamines au niveau des fibroblastes à l'activation des récepteurs β -2 adrénergiques (Meszaros et al., 2000; Turner et al., 2003; Yin et al., 2003b). In vivo, la stimulation des récepteurs β -2 adrénergiques joue un rôle essentiel dans l'induction de l'activation des myofibroblastes et le remodelage du myocarde. Dans un modèle de rats, l'injection de l'isoprotérénol augmente l'expression de l' α -SMA (actine du muscle lisse de type α) qui caractérise les myofibroblastes avec un pic de prolifération des myofibroblastes observé après 3 jours (Nakatsuji, Yamate et al. 1997). La NE et l'isoprotérénol induisent la prolifération des fibroblastes chez les rats et les

humains durant les différents étapes de développement, soit dans des cellules de nouveau-nés ou d'adultes. Cette prolifération est due à l'élévation de la synthèse de l'ADN et même à l'augmentation de nombre de fibroblastes (Akiyama-Uchida et al., 2002). Il a été démontré que la NE induit l'expression des protéines de la matrice extracellulaire tel que la collagène I et la fibronectine dans les fibroblastes de rats nouveau-nés (Akiyama-Uchida et al., 2002) bien que d'autres études antérieures n'ont rapporté aucun de ces effets in vitro (Bhambi and Eghbali, 1991; Iwami et al., 1996). L'action de la NE, via les récepteurs β -2 adrénergiques des fibroblastes, joue un rôle très important dans la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs de croissance par les fibroblastes. Ces cytokines et facteurs de croissance jouent un rôle essentiel dans la prolifération des fibroblastes et dans la modification de la matrice extracellulaire. La stimulation par la NE et l'isoprotérénol des récepteurs adrénergiques dans les fibroblastes cardiaques de rats et de souris augmentent la sécrétion de l'interleukine-6 (IL-6) (Briest et al., 2003; Burger et al., 2001; Leicht et al., 2003). De même, la stimulation des fibroblastes cardiaques de souris par l'isoprotérénol augmente la sécrétion de l'interleukine-1 β (IL-1 β) et du facteur de nécrose tumorale de type α (TNF- α) (Jaffre et al., 2004). La NE et l'isoprotérénol peuvent stimuler également la sécrétion de TGF- β (Fisher and Absher, 1995) et la sécrétion de l'Ang II par les fibroblastes cardiaques de rats nouveau-nés (Dostal et al., 2000).

ii. La voie de signalisation des MAPKs (Mitogen activated protein kinase) :

La cascade des MAPKs est une voie de signalisation hautement conservée qui convertit plusieurs signaux extracellulaires en des réponses intracellulaires comme la différenciation cellulaire, le mouvement cellulaire, la division cellulaire et la mort cellulaire (Molkentin and Dorn, 2001). Les MAPKs phosphorylent des résidus sérine/thréonine de certaines protéines spécifiques et régulent l'activité cellulaire (Vatner et al., 2000). Plusieurs membres de la famille des MAPKs ont été isolés dont les ERKs (*Extracellular signal receptor-Regulated Kinase*), les JNKs (*c-jun NH2-terminal Kinase*) et les MAPK p38.

JNK et p38 sont bien caractérisés et leur importance a été rapportée dans la réponse à des stimuli hypertrophiques augmentant l'expression génique et la synthèse protéique (LaMorte et al., 1994) tandis que ERK est particulièrement impliqué dans la réponse associée à la croissance (Clerk and Sugden, 2001). Les kinases p38 et JNKs fonctionnent comme des capteurs spécifiques de la réponse au stress : ainsi elles sont catégorisées comme des protéines kinases qui répondent au stress (SAPK). L'activation de JNK est spécialement surrégulée en réponse à une surcharge de pression tandis que l'activation de p38 est nettement induite dans les cœurs soumis à des surcharges volumiques (Wang, 2001). L'exposition des cardiomyocytes au stress ou à des agonistes des RCPGs, tel que la NE qui agit via les récepteurs adrénergiques, conduit à l'activation des petites protéines G tel que Ras et Raf ce qui active encore la voie de signalisation des MAPKs (Paul et al., 1997). En outre, les MAPKs sont aussi activées par d'autres kinases et sont responsables de

l'activation de plusieurs facteurs de transcription (Davis et al., 2005; Komuro and Yazaki, 1993). Par ailleurs, certains de ces facteurs sont importants pour la transactivation de nombreux gènes répondant au stress comme l'interleukine-1 (IL-1), le facteur de nécrose tumoral (TNF) et le c-jun (De Windt et al., 2000; Soeki et al., 2005). De plus, p38 phosphoryle directement le facteur activateur de la transcription-2 (ATF-2) et le facteur renforceur myocytaire (MEF-2) (Takeishi et al., 2000) qui activent de nombreux facteurs transcriptionnels et ainsi ils régulent l'expression des gènes hypertrophiques (Nemoto et al., 1998; Wang, 2001).

a. ERK 1/2:

Plusieurs études ont démontré le rôle de la voie de signalisation de Ras/Raf/MEK1/ERK dans le développement de l'hypertrophie cardiaque. Hunter et al. (1995) étaient les premiers à démontrer que l'expression génique de Ras active ERK1/2 et par conséquent l'activation d'ERK1/2, dans le cœur de souris, mène à une hypertrophie cardiaque associée à une hypertrophie des cardiomyocytes sans la présence de fibrose cardiaque (Hunter et al., 1995). La surexpression de MEK-1 en amont de ERK 1/2 mène à l'hypertrophie des cardiomyocytes in vitro. Par contre, un dominant négatif de MEK-1 atténue la réponse (Ueyama et al., 2000), ce qui suggère le rôle de ERK 1/2 en aval de ces protéines activatrices. Cette suractivation d'ERK consiste en une hypertrophie et une résistance partielle contre l'apoptose (Bueno et al., 2000). La signalisation de ERK via les RCPGs, tel que les récepteurs adrénergiques, a révélé une stimulation de l'hypertrophie cardiaque (Salazar et al., 2007). Les agonistes des récepteurs β adrénergiques causent

l'hypertrophie des cardiomyocytes via une interaction directe entre ERK et les β -arrestines (Barki-Harrington et al., 2004; Salazar et al., 2007). De même, les récepteurs α -1 adrénergiques induisent l'hypertrophie cardiaque via ERK (Kuster et al., 2005; Xiao et al., 2001). Toutes ces évidences indiquent que la signalisation de ERK joue un rôle primordial dans les pathologies cardiaques comme l'hypertrophie et le remodelage cardiaque (Rose et al., 2010).

b. JNK :

La suractivation de JNK dans les cardiomyocytes de rats nouveau-nés mène à des phénotypes hypertrophiques (Wang et al., 1998). De même, la perte de la signalisation de JNK dans le cœur diminue l'hypertrophie induite par la protéine G α_q notamment recrutée par les récepteurs α -1 adrénergiques (Minamino et al., 2002). D'autres études ont démontré que la signalisation de JNK joue un rôle important dans l'hypertrophie des cardiomyocytes en culture induite par l'ET-1 (Irukayama-Tomobe et al., 2004). Au contraire, l'activation de JNK dans le cœur, suite à la surexpression de MKK7, active le programme des gènes fœtaux et le remodelage ventriculaire et n'induit pas l'hypertrophie cardiaque (Petrich et al., 2002). L'activation transgénique de la signalisation de JNK dans le cœur résulte en une cardiomyopathie létale avec un remodelage extracellulaire sélectif (Petrich et al., 2004). De même, la voie de signalisation ASK-1/JNK joue un rôle important dans le remodelage cardiaque et l'apoptose induite par la stimulation des récepteurs β adrénergiques (Fan et al., 2006). Ces résultats indiquent que le rôle de JNK dans le remodelage cardiaque pathologique peut dépendre des stimuli activateurs. Cependant, parce que l'hypertrophie et

le remodelage se produisent simultanément, il est difficile de déterminer si le remodelage observé dans certains de ces cas est un résultat concret et direct de l'activation de JNK ou secondaire à une hypertrophie qui a déjà recruté d'autres voies de signalisation.

c. P-38 :

La NE ainsi que des cytokines pro-inflammatoires tel que TGF- β (facteur de croissance transformant de type β) sont capables d'activer la MAPK p38. Liao et al. (2001) ont démontré que l'activation ciblée de la MAPK p38 dans le myocarde de souris mène à une cardiomyopathie restrictive accompagnée d'une fibrose interstitielle significative (Liao et al., 2001). De plus, différents groupes ont démontré que la surexpression de p38 induit des changements hypertrophiques des cardiomyocytes in vitro en augmentant la taille des cellules, l'induction de l'organisation des sarcomères et l'expression de l'ANP (Nemoto et al., 1998; Wang et al., 1998).

iii. La voie de signalisation Phosphoinositide 3- Kinase / Akt (PI3K)/Akt:

L'activation de la PI3K a lieu suite à la stimulation des récepteurs tyrosines kinases comme l'IGF (Facteur de croissance apparenté à l'insuline), le FGF (Facteur de croissance des fibroblastes), le TGF et la famille des récepteurs de l'IL-6, aussi bien que suite à la stimulation des RCPGs comme les récepteurs β -adrénergiques (Chesley et al., 2000; Zhu et al., 2001). La PI3K peut aussi être régulée suite à une interaction directe avec la protéine proto-oncogène Ras (Datta et al., 1999). Une des principales cibles de la voie de signalisation de la PI3K est la kinase sérine thréonine Akt, aussi connue sous le nom de la

protéine kinase B (PKB) qui se transloque au noyau après son activation suite à sa liaison à la PI3K. Oudit et al. (2003) ont démontré que la PI3K γ est critique pour induire l'hypertrophie du myocarde, la fibrose interstitielle et le dysfonctionnement cardiaque en réponse à la stimulation des récepteurs β -adrénergiques (Oudit et al., 2003). Ce lien entre la signalisation des récepteurs β -adrénergiques et la voie de PI3K/Akt pourrait donc constituer une cible majeure intéressante pour le traitement de la transition de l'hypertrophie du cœur à la défaillance cardiaque. De plus, l'hypertrophie induite par la voie de signalisation PI3K/Akt est médiée d'une façon directe par deux protéines cibles : mTOR (mammalian target of Rapamycin) et GSK3 β (Glycogen synthase kinase 3 β). GSK3 β est une protéine à fonction multiple qui contrôle la synthèse protéique, l'apoptose et le cycle cellulaire (Hardt and Sadoshima, 2002). Les récepteurs β 1-adrénergiques activent l'Akt via PI3K ou CAMK (Ca²⁺/Calmodulin dependent protein Kinase) (Morisco et al., 2000; Morisco et al., 2001). L'hypertrophie cellulaire et l'activation transcriptionnelle du promoteur de l'ANF suite à la stimulation des récepteurs β -1 adrénergiques par l'isoprotérénol ont été prouvé d'être dépendant de l'activation de l'Akt (Morisco et al., 2000). En effet, il a été démontré que GSK3 β régule l'export nucléaire du facteur de transcription GATA4 et que la stimulation des récepteurs adrénergiques induit la phosphorylation/inactivation de GSK3 β ainsi que la localisation nucléaire de GATA4 dans les cardiomyocytes des rats nouveau-nés (Morisco et al., 2001). L'effet anti-apoptotique de la stimulation des récepteurs β -2 adrénergiques dans des cardiomyocytes de souris adultes dépend de l'Akt (Zhu et al., 2001). Simard et al., ont démontré que les récepteurs β -1 et β -2-adrénergiques sont capables de recruter la PI3K vers la membrane cytoplasmique mais que seuls les récepteurs β -2 adrénergiques sont capables

d'activer la PI3K. L'effet pro-apoptotique des récepteurs β -1 adrénergiques et l'effet hypertrophique de la voie PI3K/Akt se contredisent. Les travaux de Morisco et al. (2000) d'une part et ceux de Zhu et al. (2001) et Simard et al. (2009) d'autre part, laissent le débat ouvert pour la contribution relative des récepteurs β -1 et β -2 adrénergiques dans l'activation de l'Akt.

iv. Le rôle de l'inflammation :

L'activation chronique du SNS via les récepteurs adrénergiques stimule l'activité fonctionnelle du cœur, induit l'hypertrophie, le remodelage cardiaque pathologique et même la mort cellulaire. Une partie de ce processus implique les cytokines et les voies pro-inflammatoires. En effet, la stimulation chronique des récepteurs β adrénergiques induit l'expression cardiaque des cytokines pro-inflammatoires telles que, TNF- α , IL-1 β et IL-6 (Murray et al., 2000; Yin et al., 2003a). De plus, le dysfonctionnement du myocarde est associé à des niveaux élevés de ces 3 cytokines (Shan et al., 1997; Terrell et al., 2006) et des niveaux plasmatiques élevés de TNF- α et d'IL-6 ont été associés à des risques élevés de défaillance cardiaque congestive chez des personnes sans la présence d'infarctus du myocarde (Vasan et al., 2003).

Les cytokines sont des molécules à faible poids moléculaire et sont produites par plusieurs types de cellules. Les cellules majeures sécrétant les cytokines sont les cellules immunes telles que les macrophages (Kuwahara et al., 2004), les mastocytes (Levick et al., 2009) et éventuellement les cellules T (Yu et al., 2005). De plus, IL-6 et TNF- α sont sécrétés par les cardiomyocytes et les fibroblastes (Ancey et al., 2002).

a. TNF- α :

Le TNF- α est une cytokine composée de 175 acides aminés qui est produite par une variabilité de cellules immunes et non-immunes en réponse à différents stimuli inflammatoires ou infectieux (Henriksen and Newby, 2003). Les cellules cardiaques sont capables de sécréter le TNF- α suite au stress mécanique induit par une surcharge volumique ou de pression qui caractérise l'hypertension artérielle et l'HVG (Baumgarten et al., 2002; Roncon-Albuquerque et al., 2006). Le TNF- α exerce ses effets via 2 types de récepteurs membranaires, le TNFR-1 et le TNFR-2. Le TNFR-1 médie la majorité des effets cytotoxiques et nuisibles tandis que le TNFR-2 est responsable de la plupart des effets cytoprotecteurs qui se produisent dans le cœur (Hamid et al., 2009; Monden et al., 2007). La voie de signalisation du TNF- α contribue à la croissance des cardiomyocytes et au remodelage cardiovasculaire (Sun et al., 2007). La surexpression de TNF- α induit l'hypertrophie des cardiomyocytes et la réexpression du programme des gènes fœtaux (Dibbs et al., 2003; Janczewski et al., 2003). De plus, le TNF- α peut influencer l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-6 (Turner et al., 2007) qui, à leur tour participent à la réponse de la croissance hypertrophique.

TNF- α est bien connue encore pour ses effets au niveau du dysfonctionnement contractile. La génération du TNF- α NO-indépendant des canaux calciques ou du GMPc produit par défaut suite à la signalisation des récepteurs β adrénergiques est partiellement responsable des effets dépresseurs produits par TNF- α . Ces effets sont liés par une diminution de la production de l'AMPc en réponse à l'isoprotérénol en présence de TNF- α ,

et cela n'est pas renversé suite à l'administration de L-NMA (Kumar et al., 2007a). TNF- α induit aussi l'apoptose des myocytes cardiaques, (Haudek et al., 2007) qui contribuent à l'amincissement progressive de la paroi du ventricule gauche et le remodelage cardiaque qui marque l'étape finale de l'HVG et transitoire qui aboutit à l'insuffisance cardiaque (Bozkurt et al., 1998; Engel et al., 2004; Kubota et al., 1997). L'activation des TNFR-1 initie l'apoptose des cardiomyocytes via la MAPK JNK (Monden et al., 2007). D'autre part, l'activation des TNFR-1 possède un effet anti-apoptotique via l'activation de NF κ B (facteur de transcription nucléaire Kappa B). La balance entre NF κ B et JNK détermine la mort ou la survie cellulaire (Bozkurt et al., 1998). L'importance relative de ces facteurs peut dépendre du type des cellules et de la situation particulière dans laquelle ils sont examinés.

Le TNF- α augmente la migration/invasion, la prolifération et l'expression des métalloprotéases matricielles (MMPs) et des cytokines pro-inflammatoires par les myofibroblastes auriculaires humaines (Porter et al., 2004; Turner et al., 2007). De même, TNF- α augmente la prolifération (Jacobs et al., 1999) et la migration (Mitchell et al., 2007) des fibroblastes cardiaques de rats. De plus, le TNF- α augmente l'expression des MMPs et diminue la synthèse de collagène dans les fibroblastes cardiaques de rats nouveau-nés et adultes (Siwik et al., 2000). D'autres ont démontré que la stimulation à long terme par TNF- α augmente le contenu en collagène fibrillaire avec une diminution de l'activité des MMPs (Sivasubramanian et al., 2001).

b. IL-6 :

L'IL-6 et l'activation subséquente de la glycoprotéine 130 (gp130) contribuent à la croissance et l'hypertrophie des cardiomyocytes (Yamauchi-Takahara and Kishimoto, 2000). L'activation continue de la gp 130 dans des souris doubles-transgéniques surexprimant à la fois l'IL-6 et le précepteur de l'IL-6 (IL-6R) est associée à une hypertrophie des cardiomyocytes déterminée par la taille et le poids des cardiomyocytes, la masse cardiaque et l'amincissement de la paroi du ventricule gauche (Hirota et al., 1995). La liaison de l'IL-6 à son récepteur permet la dimérisation avec la gp130 qui déclenche l'activation de plusieurs cascades de voies de signalisation tel que la voie JAK-STAT, la voie Ras/Raf/MEK/ERK et la voie de signalisation PI3K/Akt (Fischer and Hilfiker-Kleiner, 2007). En plus de son rôle hypertrophique, l'IL-6 est un médiateur puissant de la dépression contractile du myocarde et potentialise l'effet cardiodépresseur du TNF- α et de l'IL-1 β (Maass et al., 2002).

Aussi, l'IL-6 module la fonction cellulaire via la signalisation de l'hétérodimère IL-6R-gp130 exprimé à la surface des fibroblastes en culture (Tsuruda et al., 2002). L'IL-6 induit la prolifération des fibroblastes dans plusieurs modèles de rongeurs ainsi que le changement de la balance de la matrice extra-cellulaire en favorisant la diminution du dépôt de collagène et l'élévation de l'activité des MMPs (Siwik et al., 2000).

c. IL-1 β :

En réponse à différentes lésions, les cellules cardiaques sont capables de produire l'IL-1 β ainsi que d'autres cytokines pro-inflammatoires (Ono et al., 1998; Yue et al., 1998).

L'expression de l'IL-1 β est augmentée en cas d'HVG induite suite à une surcharge de volume et de pression tel que le cas de l'hypertension (Zhang et al., 2007). Dans des cardiomyocytes de rats isolés en culture, l'IL-1 β induit l'hypertrophie, mais inhibe la prolifération des fibroblastes (Palmer et al., 1995). Cette réponse hypertrophique est accompagnée par une augmentation de l'expression des gènes fœtaux et des gènes régulateurs du calcium (Thaik et al., 1995). L'effet hypertrophique de l'IL-1 β est NO-indépendant et paraît être médié via les RTKs (Palmer et al., 1995; Thaik et al., 1995). In vivo, l'IL-1 β et le TNF- α intensifient le dysfonctionnement contractile des cardiomyocytes en culture (Stein et al., 1996) et de cœurs isolés perfusés avec ces 2 cytokines (Schulz et al., 1995). Contrairement à son effet hypertrophique, IL-1 β induit la mort cellulaire programmée dans des cardiomyocytes en culture via l'induction des NOS (Ing et al., 1999).

Différentes études ont montré que l'action de l'IL-1 β sur les récepteurs de l'IL-1 β (IL-1R) stimule la migration (Brown et al., 2007; Mitchell et al., 2007) et inhibe la prolifération des fibroblastes cardiaques (Koudssi et al., 1998; Palmer et al., 1995). L'IL-1 β induit la dégradation nette de la matrice extracellulaire en réduisant la synthèse du collagène I et III et en augmentant l'expression des MMPs (Brown et al., 2007; Siwik et al., 2000).

2. Pression artérielle

2.1. Description :

La pression artérielle (PA) est la force exercée par le sang contre les parois des vaisseaux sanguins où le sang circule grâce au cœur qui le distribue vers toutes les parties du corps. La pression sanguine dépend du débit cardiaque et de la résistance vasculaire périphérique. La pression artérielle est mesurée en mmHg et comporte deux variables : la pression artérielle systolique et la pression artérielle diastolique. La première se génère au moment où le cœur se contracte pour éjecter le sang (systole) tandis que la deuxième se mesure lorsque le cœur se remplit de sang c'est-à-dire lorsqu'il est au repos entre deux battements (diastole). La PA physiologique chez l'adulte correspond à des valeurs inférieures à 120 mm Hg pour la pression systolique et inférieures à 80 mm Hg pour la pression diastolique.

Elle est étroitement régulée par une série de réflexes physiologiques et hormonaux qui répondent à des changements aigus ou chroniques de la pression sanguine.

2.2. Les systèmes impliqués dans la régulation de la pression artérielle :

Il existe plusieurs peptides qui modulent la pression artérielle. Parmi ceux-ci on trouve l'hormone antidiurétique (ADH), aussi appelée vasopressine, produite au niveau de l'hypothalamus et sécrétée par l'hypophyse qui, comme son nom l'indique, augmente la

rétention de sel et d'eau au niveau des reins. En de grandes quantités, l'ADH peut aussi avoir un effet vasoconstricteur.

Une autre molécule qui a un effet vasoconstricteur est l'endothéline (ET) produite par les cellules de l'endothélium. Cependant, son implication dans la régulation de la PA n'est pas bien caractérisée (Costanzo, 2010).

Il existe aussi de nombreuses molécules à effet vasodilatateur. Les prostaglandines et le monoxyde d'azote (NO) sont de bons exemples. De plus, les kinines, parmi lesquelles on retrouve la bradykinine, sont des vasodilatateurs puissants. Ces molécules sont les produits du clivage des kininogènes par les kallikrénines et sont éliminées par les kininases dont l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) fait partie. Ainsi, l'ECA génère l'angiotensine II (Ang II), un puissant vasoconstricteur, et neutralise aussi l'effet vasodilatateur des kinines. Les peptides natriurétiques auriculaires (ANP) sont des peptides diurétiques, natriurétiques et des vasodilatateurs et ils sont capables de réduire la sécrétion de la rénine et de l'aldostérone (Costanzo, 2010).

Les systèmes biologiques les mieux caractérisés dans la régulation de la PA sont le système rénine-angiotensine (SRA) et le système nerveux sympathique (SNS).

2.2.1. Le système rénine angiotensine aldostérone :

L'activation du SRA aboutit à l'augmentation de la PA par l'intermédiaire d'une vasoconstriction et d'une hausse de rétention du sodium par les reins grâce à l'action de l'Ang II et de l'aldostérone.

Une baisse de la PA ou de la concentration de l'ion sodium (Na^+) dans le sang entraîne la sécrétion de la rénine. La rénine est une protéase sécrétée par l'appareil juxtaglomérulaire rénal qui agit sur le substrat circulant, l'angiotensinogène (AGT) pour libérer le décapeptide angiotensine I (Ang I) (Atlas, 2007; Burnier, 2001). Ce dernier est clivé par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sécrétée par les cellules endothéliales pour libérer l'octapeptide Ang II. L'Ang II est une substance vasoactive à plusieurs actions physiologiques incluant la vasoconstriction, la libération de l'aldostérone et la croissance cellulaire (de Gasparo et al., 2000).

L'action de l'Ang II est médiée grâce à sa liaison aux récepteurs de l'angiotensine II de type I (AT1) ou de type 2 (AT2) qui sont des récepteurs couplés à la protéine G (RCPG). Cependant, ce sont en grande majorité les récepteurs AT1 qui sont les médiateurs de l'action de l'Ang II. Ces récepteurs s'expriment au niveau de plusieurs tissus parmi lesquels on trouve les vaisseaux, le cœur, les reins, le cerveau et les glandes surrénales (SR). Chez les rongeurs, deux sous-types de récepteurs AT1, soit, AT1a et AT1b ont été identifiés (Hilgers et al., 1993; Suzuki et al., 2005).

L'Ang II provoque la vasoconstriction au niveau des artérioles. Au niveau du cerveau, la liaison de l'Ang II provoque la libération de l'ADH, augmente la sensation de soif et stimule la voie sympathique. L'action de l'ANG II dans les reins se manifeste par une réabsorption du Na^+ et de l'eau, accompagnée par une excrétion des ions potassiques (K^+). De même, les glandes surrénales sont capables de sécréter l'aldostérone suite à la liaison de l'Ang II au niveau de ces organes. En synchronie avec l'ANG II, l'aldostérone va

agir au niveau des reins pour promouvoir la rétention de l'eau et du Na⁺ en vue d'augmenter le volume sanguin et, par conséquent, la PA.

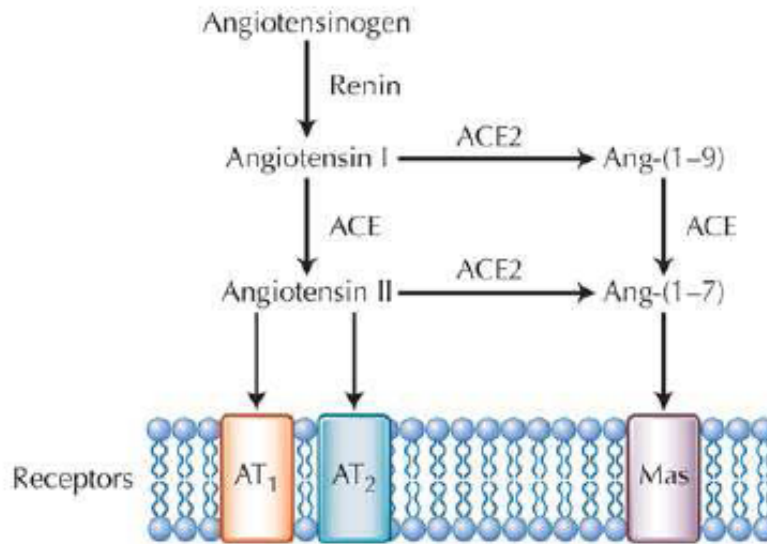


Figure 4. Le système rénine angiotensine.

Adaptée de Cowan et al., 2009

2.2.2. Le système nerveux sympathique :

i. Description :

Le système nerveux sympathique (SNS) fait partie du système nerveux autonome, involontaire, qui module les fonctions primaires des organes viscéraux. La fonction globale du SNS est de mobiliser le corps pour l'activité. Dans des situations stressantes, le SNS est activé pour produire une réponse connue sous le nom de 'fight or flight', qui implique une augmentation de la PA, une augmentation du débit sanguin pour activer les muscles, une activation du métabolisme et une augmentation de l'activité mentale et de l'alerte. Le SNS opère continuellement pour moduler la fonction de plusieurs organes tels que le cœur, les vaisseaux, le tractus gastro-intestinal, les bronches respiratoires et les glandes sudoripares.

Les neurotransmetteurs sympathiques endogènes, sont nommés catécholamines. Les catécholamines sont des amines biogènes dérivées du noyau catéchol. Les catécholamines comprennent la dopamine (DA), la norépinéphrine (NE) et l'épinéphrine (Costanzo, 2010).

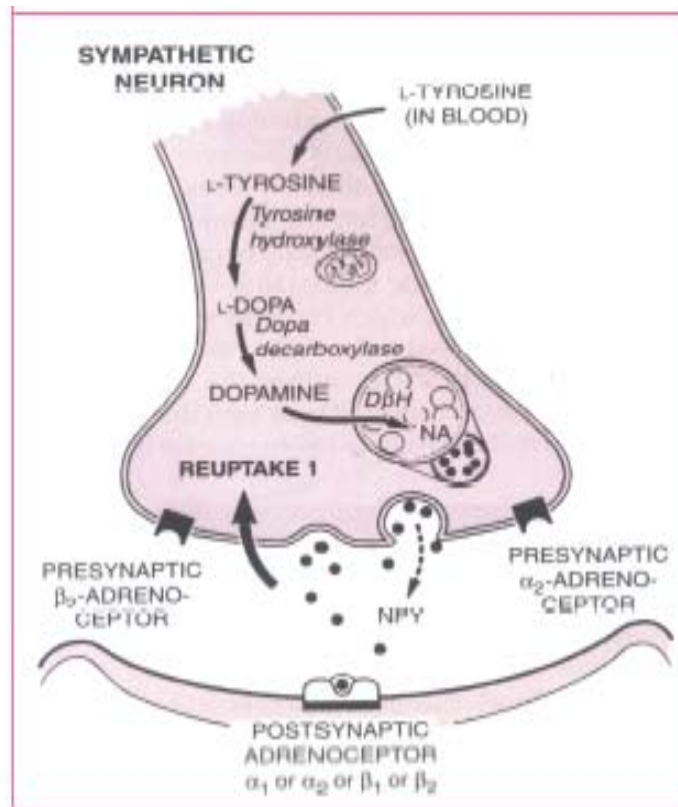


Figure 5. Libération des catécholamines par les neurones adrénergiques et localisation des récepteurs adrénergiques.

Adaptée de Kalant et al., Principles of Medical Pharmacology, 7^{ème} édition, 2007.

Le premier précurseur de la voie de biosynthèse des catécholamines (Figure 2 et 3) est l'acide aminé L-Tyrosine, qui est activement transporté du sang vers le corps cellulaire des cellules neuronales sympathiques et les cellules chromaffines. Dans le cytoplasme des cellules adrénergiques, le L-Tyrosine est converti en L-Dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) par l'enzyme tyrosine hydroxylase. Cette étape est l'étape limitante de la biosynthèse des catécholamines. Le L-DOPA est un substrat spécifique d'une autre enzyme cytoplasmique, la dopa décarboxylase, qui le convertit en dopamine reconnue comme faisant partie de la famille des catécholamines. La dopa décarboxylase présente une spécificité de substrat

assez faible; par exemple, elle peut produire le 5-hydroxytryptamine à partir du 5-hydroxytryptophane. De plus, cette enzyme peut aussi convertir le α -métyldopa en α -métyldopamine qui se convertit en α -méthylnoradrénaline, un 'faux' neurotransmetteur du système sympathique.

Une fois formé, la DA est activement captée dans les vésicules de stockage des arborisations terminales ou désaminée en acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC). Dans les vésicules, la dopamine est convertie en NE sous l'action de la dopamine- β -hydroxylase (D β H). La NE elle-même inhibe la conversion de la L-tyrosine en L-DOPA par un rétrocontrôle négatif via un mécanisme impliquant une compétition avec le cofacteur tétrahydrobioptérine. Ce processus d'inhibition par le produit final contrôle son taux de production de même que celui de la dopamine. Durant une augmentation de l'activité du SNS, le processus d'inhibition par le produit final est diminué et la synthèse de la NE est renforcée.

Dans la médullosurrénale, la NE est méthylée dans le cytoplasme par la phényléthanolamine N-méthyl transférase (PNMT) pour former l'épinéphrine. Le taux de formation de l'épinéphrine dans les cellules chromaffines dépend des glucocorticoïdes sécrétés par le cortex surrénal et qui sont transportés en concentrations élevées directement aux cellules chromaffines de la médullosurrénale pour induire la PNMT. Chez un humain adulte, l'épinéphrine constitue approximativement 80% des catécholamines totales produites par la médullosurrénale.

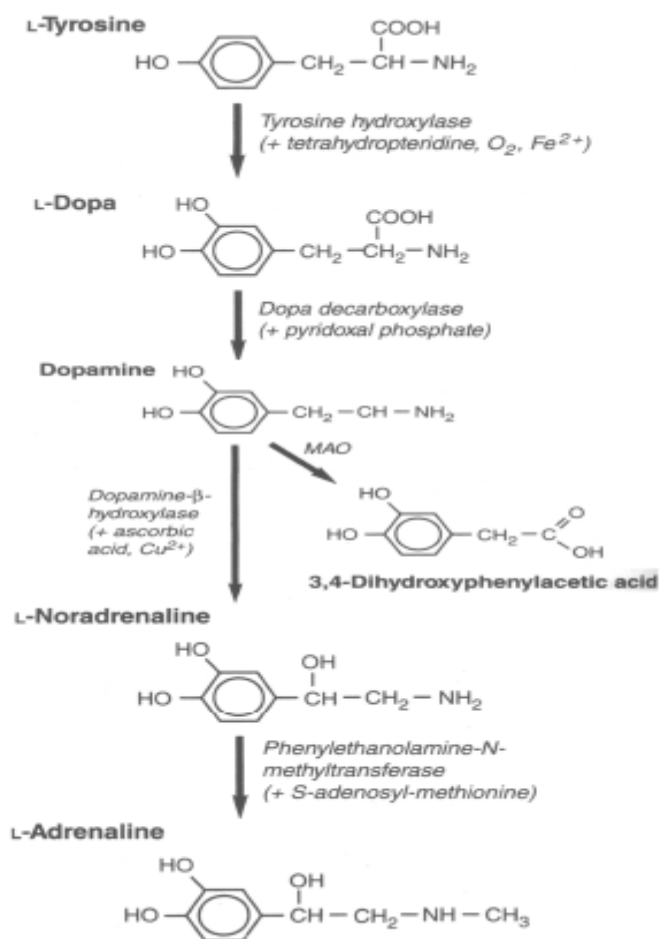


Figure 6. La voie de biosynthèse des catécholamines.

Les parenthèses contiennent les cofacteurs essentiels. MAO : Monoamine oxydase
Adaptée de Kalant et al., Principles of Medical Pharmacology, 7^{ème} édition, 2007.

ii. Les récepteurs adrénergiques :

Le neurotransmetteur postganglionique NE agit au niveau des récepteurs adrénergiques. Les travaux d'Ahlquist et al. (1948) ont permis de proposer la présence de deux types de récepteurs adrénergiques (α et β) en se basant sur la capacité de la NE, de l'E et de l'isoprotérénol (un catécholamine synthétique) à réguler différents processus physiologiques comme la contraction des muscles lisses (Ahlquist, 1948).

Les récepteurs adrénergiques sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG) (Trumpp-Kallmeyer et al., 1992). Ils sont subdivisés selon des critères d'anatomie et de fonctionnalité : les récepteurs adrénergiques de type α médient des effets tels que la vasoconstriction via les récepteurs adrénergiques α -1 dans les vaisseaux et une inhibition de la libération de la NE par les terminaisons présynaptiques par un rétrocontrôle négatif via les récepteurs α -2 adrénergiques (Docherty, 1998). L'activation des récepteurs adrénergiques α -2 par un agoniste, tel que la NE, inhibe en outre la libération de la NE par les mêmes terminaisons. Ce rétrocontrôle négatif conserve la NE en état de stimulation élevé du SNS. Le mécanisme d'action des récepteurs adrénergiques α -2 implique l'inhibition de l'adénylate cyclase.

De même, les récepteurs adrénergiques β -1 dans le cœur médient leurs effets sur la force de contraction et la fréquence cardiaque d'une façon différente des récepteurs adrénergiques β -2 qui promouvaient la relaxation du muscle lisse dans les bronchioles et les vaisseaux. Chaque type majeur se lie préférentiellement à une classe de protéine G particulière. Par exemple, les récepteurs adrénergiques β -1 et β -2 recrutent les protéines

Gas tandis que les récepteurs adrénergiques α -1 et les récepteurs adrénergiques α -2 recrutent respectivement les protéines $G_{\alpha q}$ et $G_{\alpha i}$.

2.3.Hypertension :

La pression artérielle change au cours de la journée, mais lorsqu'elle demeure élevée en permanence, on parle d'hypertension artérielle, ou en d'autres termes, de personnes hypertendues.

L'hypertension est définie conventionnellement comme une pression artérielle \geq 140/90 mm Hg. On distingue deux types d'hypertension artérielle (Kannel, 1989) :

i. Hypertension primaire :

Dans 95 % des cas, il n'existe pas de cause identifiable de l'hypertension désignée comme hypertension primaire (Jain et al., 2008). Malgré plusieurs années de recherche, il n'y a aucun facteur majeur qui peut être attribué à l'hypertension primaire. Il existe une progression naturelle de la pathologie qui suggère qu'une élévation précoce du volume sanguin et du débit cardiaque initient des changements ultérieurs de la vascularisation systémique en augmentant la résistance.

ii. Hypertension secondaire :

Environ 5 % des sujets hypertendus souffrent d'une forme d'hypertension dite secondaire dont la cause est identifiable ou secondaire à une pathologie sous-jacente (Onusko, 2003). Les pathologies rénales (rétrécissement réno-vasculaire) et les pathologies endocriniennes (aldostéronisme primaire, phéochromocytome et maladies thyroïdiennes),

néphropathies vasculaires et l'éclampsie de la grossesse peuvent être à l'origine d'une hypertension secondaire (Jain et al., 2008).

2.3.1. Les systèmes impliqués :

Les différentes interactions entre les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux peuvent contribuer au développement de l'hypertension primaire en affectant les mécanismes impliqués dans cette forme, comme la fonction rénale, le système rénine-angiotensine-aldostérone, les catécholamines circulantes, l'ET et le stress oxydatif.

Les anomalies du système rénine-angiotensine-aldostérone sont intimement impliquées dans la pathogenèse de l'hypertension et d'autres désordres cardiovasculaires et rénaux (Burnier, 2001). Le SRAA existe sous deux formes distinctes : localement dans différents tissus ou en circulation sanguine ce qui démontrent une régulation et une attribution patho-physiologique indépendante (Kumar et al., 2007b).

Le SNS est un des systèmes régulateurs pour la pression artérielle. Une suractivité du SNS induit différentes maladies, notamment l'hypertension, et sera discuté en détail.

2.3.2. Rôle du SNS dans la pathogenèse de l'hypertension :

L'hyperactivité du SNS joue un rôle très important dans la pathogenèse de l'hypertension précoce dans plusieurs modèles de rats hypertendus (Guyenet, 2006). Julius

et al. (1991) et d'autres, ont indiqué que l'hypertension est souvent initiée par une augmentation de l'activité du système adrénergique (circulation hyperdynamique) menant à une élévation du débit cardiaque, mais maintenue par une vasoconstriction ultérieure, un remodelage vasculaire et par conséquent une vasoconstriction accompagnée avec un débit cardiaque anormal (Julius, 1991). De même, l'activation des récepteurs adrénergiques β -1 dans les reins stimulent l'activité du SRAA (Winer et al., 1969). Des travaux considérables du groupe d'Esler ont démontré que la première étape de l'hypertension primaire est caractérisée par une activation sympathique dirigée vers les reins et le cœur (Esler et al., 2006; Schlaich et al., 2004). Au niveau cellulaire et moléculaire, la NE est tout aussi puissante que l'Ang II en causant l'hypertrophie du myocarde et du muscle vasculaire lisse (Victor and Shafiq, 2008).

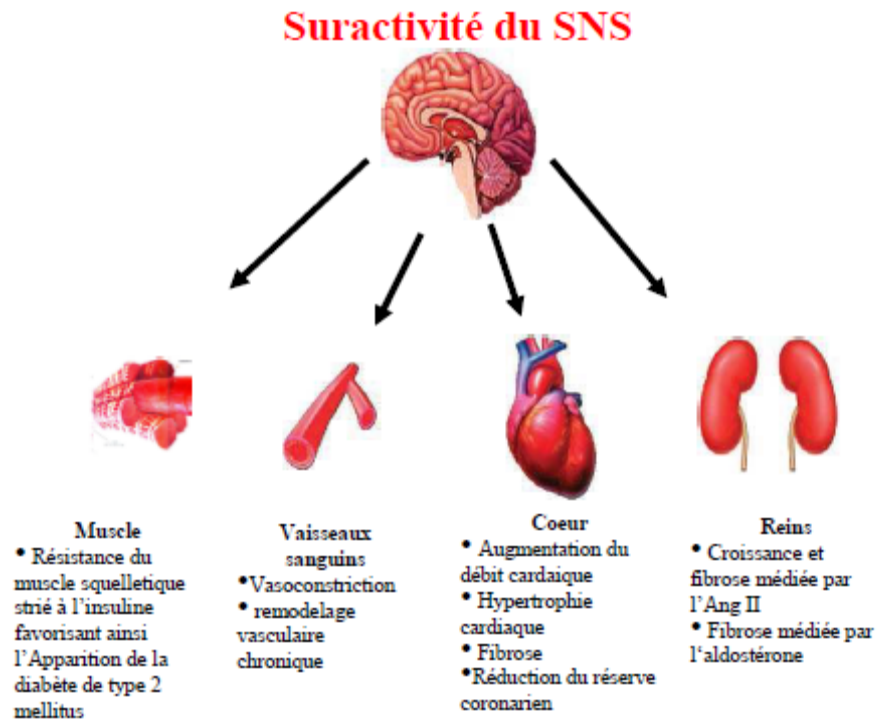


Figure 7. Les différentes pathologies associées à la suractivité du système nerveux sympathique.

2.3.3. Les pathologies associées à l'hypertension :

L'hypertension artérielle est associée à différentes pathologies du système cardiaque. De même, l'atteinte de différents systèmes est associée à l'hypertension tels que le système vasculaire, le système cérébrovasculaire et le système rénal. Une augmentation de la pression artérielle de 115/75 mm/Hg à 135/85 mm/Hg a doublé le taux de mortalité dans les maladies cardiaques ischémiques et les accidents vasculaires cérébraux. Les différentes pathologies reliées à l'hypertension sont nombreuses :

- L'hypertrophie du ventricule gauche (HVG) (Kokkinos et al., 2007).

- Les troubles de relaxation du myocarde et le dysfonctionnement diastolique (de Simone et al., 2004).
- L'insuffisance cardiaque congestive (Yancy et al., 2006).
- L'élévation des concentrations plasmatiques des cytokines pro-inflammatoires (Chae et al., 2001; Dorffel et al., 1999; Peeters et al., 2001) et l'élévation de la concentration de nombreux marqueurs d'inflammation et de risque cardiovasculaire tel que la protéine C réactive (CRP) (Bo et al., 2009).
- L'augmentation des maladies coronariennes ischémiques et des AVC (Erdogan et al., 2007; Kshirsagar et al., 2006; Pletcher and Greenland, 2008; Sipahi et al., 2006).
- L'athérosclérose rénale (Ninomiya and Kiyohara, 2007).

3. Le traitement de l'hypertension :

Le but du traitement de l'hypertension par des antihypertenseurs est de prévenir ou de réduire l'atteinte des organes cibles. Par conséquent, ces médicaments agissent au niveau de différents sites impliqués dans la régulation et le contrôle de la pression artérielle comme le système nerveux central, le cœur, les reins et le système vasculaire. La classification des médicaments antihypertenseurs est basée sur les différents sites d'action où l'on retrouve les agents sympatholytiques dont le rôle est de réduire le tonus sympathique, les inhibiteurs du SRAA tels que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (iECA) et

les antagonistes des récepteurs de l'Ang II (ARA), les vasodilatateurs, les diurétiques, et les bloqueurs des canaux calciques. La discussion sera limitée aux agents sympatholytiques.

3.1. Les agents sympatholytiques :

Les agents sympatholytiques se subdivisent en deux grandes catégories. La première est celle des agents d'action périphérique qui inhibent les neurones sympathiques postganglionnaires et les récepteurs α - ou β - adrénergiques au niveau des organes cibles, tandis que la deuxième est celle des agents sympatholytiques d'action centrale qui inhibent l'activité du SNS et la libération de la NE vers la périphérie.

i. Les bloqueurs α et β adrénergiques :

L'objectif de traitement avec un agent sympatholytique qui inhibe les neurones adrénergiques postganglionnaires est d'atténuer le tonus sympathique en diminuant la liaison des catécholamines sur les récepteurs adrénergiques. Les sous-types qui présentent des cibles pharmacologiques sont notamment les récepteurs α -1, β -1 et β -2 adrénergiques.

Les bloqueurs des récepteurs α -1 adrénergiques, comme la prazosine, sont utilisés pour diminuer les effets associés à ce récepteur comme la vasoconstriction des vaisseaux, la synthèse protéique, l'hypertrophie des cardiomyocytes et l'augmentation de la libération du facteur natriurétique auriculaire (Leier et al., 1990).

D'autre part, les effets des β -bloqueurs, comme le propranolol, peuvent être reliés à la diminution de la fréquence et du débit cardiaque en diminuant l'activation des récepteurs

β -1 adrénergiques par les catécholamines (Frishman and Silverman, 1979), l'inhibition de la libération de la rénine sécrétée suite à l'activation des récepteurs β -1 adrénergiques dans la médullo-surrénale (Garrett and Kaplan, 1980), l'inhibition du flux sympathique central, la libération de l'oxyde nitrique (Pedersen and Cockcroft, 2006) et par d'autres mécanismes.

ii. Les agents sympatholytiques d'action centrale :

Les sympatholytiques d'action centrale réduisent d'une manière directe le flux sympathique vers le cœur et les vaisseaux suite à leur action directe sur le centre de contrôle du système nerveux sympathique dans le tronc cérébral. Ces agents sont divisés en deux catégories selon leur mécanisme d'action.

a. Les agonistes des récepteurs α 2-adrénergiques:

La clonidine et l' α -méthyl dopa stimulent les récepteurs α -2A adrénergiques qui sont impliqués dans les mécanismes sympatho-inhibitoires dépresseurs (van Zwieten, 1999). Ces agonistes stimulent les récepteurs α -2A adrénergiques dans la médulla rostro ventro latérale (RVLM) et inhibent le flux nerveux sympathique vers la périphérie et par conséquent, la réduction de l'activité du système nerveux sympathique cause une vasodilatation relative, alors que la réduction de l'activité nerveuse sympathique cardiaque favorise une diminution de la fréquence cardiaque.

b. Les agonistes des récepteurs aux imidazolines I1 (RI1):

Le concept des RI1 dans le cerveau et leur implication dans la régulation centrale de la pression artérielle a été proposé pour la première fois par Bousquet et al. en 1984. Ce concept est basé sur la présence d'un récepteur non-adrénergique qui est capable de lier des molécules possédant un noyau imidazole (Bousquet et al., 1984).

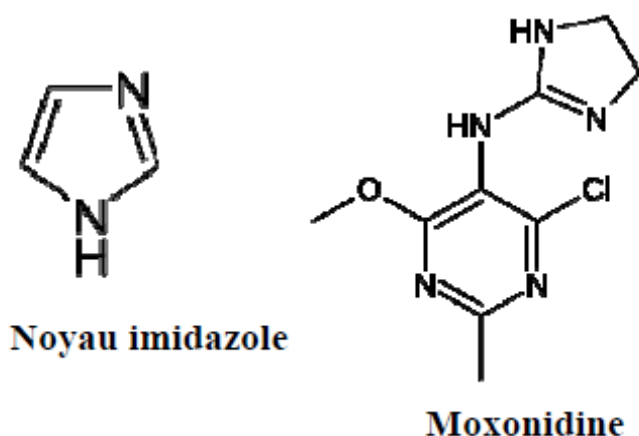


Figure 8. La structure du noyau imidazole et la structure de la moxonidine, un agoniste sélectif des récepteurs aux imidazolines (RI₁).

Les RI1 sont identifiés dans le système nerveux central (SNC) et leur stimulation dans le RVLM mène à la sympatho-inhibition périphérique (Ernsberger et al., 1993; van Zwieten, 1997). Leur stimulation induit des effets similaires à ceux induits par la stimulation des récepteurs α -2A adrénergiques, avec des effets indésirables plus restreints (Macphee et al., 1992; Planitz, 1987).

Les RI1 sont impliqués dans la régulation de la pression artérielle et sont localisés dans le RVLM, la zone pharmacologique cible des agents sympatholytiques, là où les récepteurs α -2A adrénergiques sont moins abondants (Bousquet et al., 1984; Hieble and Ruffolo, 1992). Les RI1 ont été identifiés aussi au niveau des reins et d'une façon prédominante dans les tubules proximaux (Penner and Smyth, 1994, 1995). Les agonistes de ces RI1 les plus connus sont la moxonidine et la rilmenidine. Ils réduisent l'activité du SNS (Esler et al., 2004) et peuvent diminuer la résistance à l'insuline. Ils sont donc prescrits aux patients souffrant du syndrome métabolique (Ernsberger et al., 1993; Sharma et al., 2004) et produisent moins d'effets secondaires que la clonidine qui agit au niveau des RI1 et des récepteurs α -2A adrénergiques.

3.2. Moxonidine :

L'antihypertenseur central qu'est la moxonidine agit principalement au niveau des RI1 et moins sur les récepteurs α -2A adrénergiques (Bohmann et al., 1994; Ernsberger et al., 1993). En effet, l'affinité de la moxonidine aux RI1 est plus élevée que celle de la clonidine (Ernsberger et al., 1993; van Zwieten, 1997) et elle lie préférentiellement les RI1 (30:1) que les récepteurs α -2A adrénergiques (Haxhiu et al., 1994).

La moxonidine réduit la pression artérielle avec moins d'effets indésirables que ceux observés avec la clonidine. La stimulation des RI1 par la moxonidine dans le RVLM réduit le tonus sympathique vers la périphérie, spécialement vers les vaisseaux, le cœur et les reins (Ernsberger et al., 1993). De même, l'application de la moxonidine réduit les catécholamines et la rénine plasmatique en hypertension (Kirch et al., 1990; Mitrovic et al.,

1991). Les travaux de Wenzel et al. (1998) ont montré une efficacité de la moxonidine sur la réduction des pressions systoliques et diastoliques chez des patients hypertendus. La diminution de la pression artérielle par la moxonidine n'est pas seulement reliée à la diminution du tonus sympathique vers la périphérie, mais a aussi un effet direct sur les reins en activant les RI1 rénaux et stimulant ainsi la diurèse et la natriurèse (Smyth and Penner, 1999; Wenzel et al., 1998). Des travaux menés par Mukaddam-Daher et son équipe, ont montré que l'administration intraveineuse de moxonidine chez des rats normotendus et des rats hypertendus de type SHR réduit la pression artérielle, augmente les niveaux plasmatiques de l'ANP, stimule le flux urinaire et l'excrétion du sodium, du potassium, et du GMPc, qui est l'indicateur de l'activité de l'ANP indiquant en conséquence l'implication de l'ANP dans les effets aigus de la moxonidine (Mukaddam-Daher and Gutkowska, 1999, 2000). D'autres études plus avancées ont montré que l'administration intraveineuse de la moxonidine chez des rats hypertendus SHR diminue la pression artérielle, augmente les concentrations plasmatiques de l'ANP ainsi que de l'ARNm de l'ANP d'une manière dose-dépendante. L'augmentation des niveaux plasmatiques du BNP (peptide natriurétique de type B) a été observée avec la dose la plus élevée sans que des changements soient observés au niveau de l'ARNm (Menaouar et al., 2002). L'utilisation des antagonistes des récepteurs des peptides natriurétiques inhibent la réponse urinaire induite par l'administration aiguë de la moxonidine (El-Ayoubi et al., 2005). Les travaux menés par Mukaddam-Daher et son équipe ont permis de mettre en évidence la présence des RI1 dans le cœur puisque l'ANP est une hormone sécrétée principalement par le coeur (El-Ayoubi et al., 2002). En plus de la découverte des RI1 au niveau du cœur, ces travaux

ont permis de démontrer que l'expression des RI1 est augmentée chez des modèles de rats hypertendus SHR et de hamsters cardiomyopathiques (El-Ayoubi et al., 2002). Cette surexpression des RI1 a été normalisée, suite à un traitement chronique par moxonidine de 4 semaines, au niveau des oreillettes, ce qui suggère un rôle des RI1 dans la régulation cardiovasculaire. El Ayoubi et al. (2004) ont démontré la présence des récepteurs α -2A adrénergiques au niveau cardiaque et que le traitement chronique des SHR avec la moxonidine pendant 4 semaines normalise l'expression des récepteurs I1 et non des récepteurs α -2A adrénergiques (El-Ayoubi et al., 2004).

4. Hypothèses et objectifs :

Les catécholamines libérées en excès suite à la suractivité du SNS jouent un rôle essentiel dans l'élévation de la pression artérielle et l'induction de l'hypertrophie cardiaque et le remodelage du myocarde. Les catécholamines induisent l'HVG suite à leurs effets directs sur les récepteurs adrénergiques qui, à leur tour activent plusieurs voies de signalisation intimement reliés à l'hypertrophie des cardiomyocytes, la prolifération des fibroblastes et l'induction d'une fibrose suite à l'altération de la matrice extracellulaire. Les catécholamines stimulent les cellules cardiaques à sécréter des cytokines pro-inflammatoires qui contribuent à l'aggravation de l'état et par la suite induisent l'HVG d'une manière indirecte. De même, l'infusion de cytokines augmente les concentrations de la NE. Ces résultats indiquent la présence d'une interaction fonctionnelle entre le SNS et les cytokines pro-inflammatoires.

Le traitement chronique avec la moxonidine, un agent sympatholytique sélectif des RI1, réduit la pression artérielle, régresse l'HVG chez des patients et des modèles animaux (Greenwood et al., 2000; Mall et al., 1991; Menaouar et al., 2002) et prévient l'HVG induite suite à l'infarctus du myocarde (Van Kerckhoven et al., 2004). Van Kerckhoven et al. (2000) ont démontré dans un modèle de rat d'insuffisance cardiaque, que l'administration chronique de moxonidine réduit d'une manière dose-dépendante les niveaux plasmatiques de la norépinephrine reflétant ainsi l'inhibition sympathique, la régression de l'HVG et la diminution du dépôt de collagène interstitiel (Van Kerckhoven et al., 2000).

En essayant de comprendre les voies impliquées dans la régression de l'HVG dans un modèle de rats hypertendus, des études effectuées par Paquette et al. (2008) ont montré que le traitement chronique avec la moxonidine pendant 4 semaines résulte en une inhibition de la synthèse d'ADN et une diminution du contenant ventriculaire d'ADN suite à une élévation transitoire de la fragmentation d'ADN après une semaine de traitement. Cette élévation de la fragmentation a été accompagnée par une augmentation de l'activation de la protéine apoptotique caspase-3. Après 4 semaines de traitement, la moxonidine inhibait la protéine pro-apoptotique Bax et stimulait la protéine anti-apoptotique Bcl-2 (Paquette et al., 2008). Mais l'apoptose des cardiomyocytes mène au dysfonctionnement cardiaque et par la suite au développement de la défaillance cardiaque congestive.

Toutefois, les effets d'un traitement chronique avec la moxonidine sur les cytokines pro-inflammatoires et les mécanismes subséquents restent inconnus.

L'objectif de cette étude est de détecter dans un modèle animal d'hypertension artérielle et d'HVG, les rats SHR, les effets du traitement chronique par la moxonidine sur la performance cardiaque et l'HVG et les marqueurs inflammatoires impliqués dans le développement de l'HVG.

5. Choix du modèle:

Les rats spontanément hypertendus sont un modèle de rats qui développent l'hypertension avec une très grande similitude sur plusieurs aspects de l'hypertension essentielle humaine (Trippodo and Frohlich, 1981), comme la suractivité du SNS, les concentrations plasmatiques élevées des cytokines pro-inflammatoires, le développement de l'HVG et le développement d'une fibrose cardiaque. Les SHR ont été développés en 1963 par Okamoto et Aoki, par un croisement génétiquement méticuleux (frère à sœur) qui résulte en une descendance hypertendue naturelle à 100% (Okamoto and Aoki, 1963). La pression sanguine systolique devient rapidement élevée à partir de 5 à 10 semaines d'âge, tandis que l'HVG commence à s'établir à partir de la 9ème à la 12ème semaine (Shimamoto et al., 1982).

Matériel et méthodes

6. Manipulations des animaux

Toutes les procédures et les expériences faites ont été approuvées par le comité bioéthique du Centre de recherche du Centre hospitalier de l'université de Montréal (CRCHUM). Des rats normotendus WKY et des rats hypertendus SHR âgés de 12-13 semaines ont été achetés de Charles River (St Constant, QC, Canada). Les animaux ont été placés dans une chambre où la température et l'éclairage (12h obscurité / 12h éclairage) sont contrôlés, avec accès à la nourriture et à de l'eau *ad libitum*. Les expériences étaient exécutées après 3 jours d'adaptation.

Les rats SHR sont traités avec la moxonidine (Solvay Pharmaceuticals, Allemagne), ou le véhicule (solution saline), libérée continuellement grâce à des minipompes osmotiques (Alzet Corp. 2ML1 et 2ML4) implantées de manière sous-cutanée suite à une chirurgie aseptique sous anesthésie (isoflurane 2%). Les rats WKY de même âge ont servi de contrôles normotendus.

Les rats ont été divisés en 2 groupes dont chacun a été subdivisé en 4 sous groupes. Le premier groupe est le groupe des rats traités pendant une semaine et contient : les WKY, les rats SHR véhicules non-traités et les rats SHR traités avec 100 ou 400 $\mu\text{g/kg/h}$ de moxonidine. Le deuxième groupe est le groupe des rats traités pendant 4 semaines et contient : les WKY, les rats SHR véhicules non-traités et les rats SHR traités avec 100 ou 400 $\mu\text{g/kg/h}$ de moxonidine.

Le traitement chronique avec différentes doses de moxonidine (0, 100 $\mu\text{g/kg/h}$, 400 $\mu\text{g/kg/h}$) est effectué pendant 1 ou 4 semaines. La moxonidine est préparée dans une solution saline de $\text{pH}=6.5$, et finalement ajustée avec du NaOH, à un pH de 7,0-7,4, qui correspond au pH physiologique. De même, le pH du véhicule est ajusté avec du NaOH.

L'évaluation de l'échocardiographie trans-thoracique de l'anatomie et de la fonction cardiaque a été réalisée sous-anesthésie (isoflurane 2%) en utilisant un système sonos ultrasons 5500 (Phillips, Andover, Massachussetts) avec un transducteur de 12 MHz posé doucement sur l'hémi-thorax gauche rasé.

À la fin du traitement, les rats sont anesthésiés avec de l'isoflurane 2%, la pression moyenne artérielle intracarotidienne est mesurée durant 15 minutes après 10 minutes d'adaptation. Le cathéter a été connecté à un transducteur de pression (Baxter Corp, ON, Canada) et le signal transmis à un moniteur de tension artérielle (Hewlett-Packard 783538, ON, Canada). Ensuite, les rats sont euthanasiés par exsanguination par ponction cardiaque. Étant donné l'effet hypotenseur de l'isoflurane, tous les rats ont reçu la même dose pour éviter les changements qui peuvent être reliés à l'anesthésie. Le sang provenant de chaque rat est récupéré dans des tubes contenant du sodium citrate pour inhiber la coagulation du sang (BD Vacutainer® Buff. Na Citrate 0.109M, 3.2%). Les cœurs sont rapidement excisés, les ventricules gauche et droit, oreillettes gauche et droite sont séparés les uns des autres puis pesés avant d'être immédiatement congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C en attendant leur utilisation. Les tibias sont mesurés à l'aide d'un pied à coulins. Quelques cœurs de chacun des groupes sont préparés pour l'étude histologique.

7. Mesure de dépôt de collagène :

Les coupes de cœurs des ventricules cardiaques sont conservées dans un tampon neutre à 5% de formaline pendant 5 jours. Ce processus comprend trois étapes. La première consiste à remplacer l'eau des tissus par de l'éthanol (déshydratation), la seconde substitue un solvant de la paraffine (celloïdine) à l'éthanol (éclaircissement) et finalement, le tissu est imprégné de paraffine (imprégnation). À la suite de cela, le tissu est enrobé dans un bloc de paraffine. Ensuite les cœurs sont coupés en tranche mince de 5µm à l'aide d'un microtome. Les coupes sont colorées au trichrome de Masson et visualisées par microscopie. Le dépôt de collagène (en bleu) observé par les photos réalisées est quantifié à l'aide d'un logiciel informatique (*Micro ImageJ1.38x, NIH, USA*).

8. Mesure des cytokines plasmatiques:

Le sang est centrifugé à 1500 x g (Beckman GS-6KR, rotor GH-3.8) pour une durée de 20min à 4°C. Les concentrations plasmatiques des cytokines (IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α) sont mesurées par ELISA à l'aide de « Rat cytokines 4-Plex Kit » selon le guide du manufacturier (Bio-Rad Mississauga, ON, Canada). Les résultats sont rapportés en pg/ml.

9. Western Blot :

Les ventricules gauches sont pulvérisés sur de la glace sèche en s'aidant d'un marteau et d'un pilon. Afin d'extraire les protéines, des aliquots ont été préparés, pesés et puis lysés dans un tampon de lyse Nonidet-P40 ou NP-40 (NaCl 150mM, Tris 50mM pH=8,0, 1% NP-40) en additionnant 10 fois la masse en mg les différents inhibiteurs de protéases (PMSF 10^{-3} M, EDTA 10^{-3} M, Pepstatine 1mg/mL, inhibiteurs cocktail sigma, NaF 50mM). Les tissus sont homogénéisés sur glace à l'aide d'un homogénéisateur (Polytron®, Brinkmann instruments, Westbury, N.Y. 11590), vortexés 6 x 5min pour permettre la lyse de toutes les cellules non lysées, puis centrifugés à 12000 g, pendant 20 min à 4°C. Le surnageant est transféré dans des tubes eppendorf puis, la concentration de protéines dans le surnageant est mesurée en utilisant la méthode de Bradford (Bio Rad protein assay). Les différents aliquots de protéines sont normalisés à 2µg/µL à l'aide du même tampon utilisé pour lyser les tissus. Le tampon de Laemmli (4% SDS, 10% 2-mercaptoéthanol, 20 % glycérol, 0.0004% bromophénol bleu dans 0.125M Tris HCl, pH=6.8) est ajouté dans une concentration de 1X puis les échantillons sont chauffés à 100°C pendant 5 minutes pour permettre la dénaturation des protéines.

30µg de protéines sont chargés dans chaque puits de gels de SDS-PAGE 8%. Les protéines migrent par électrophorèse dans le gel d'acrylamide en condition dénaturante et à 4°C. Ensuite, les protéines sont transférées sur une membrane de nitrocellulose de type *Hybond C* en impliquant un voltage de 33 Volts, à 4°C toute la nuit. Les membranes sont bloquées avec du Tris Buffer Salin-Tween 0.01% (TBS-Tw 0.01%) contenant 5% de lait écrémé en poudre pendant une heure à température de la pièce puis à 4°C durant les 6

heures suivantes. Les 1° anticorps appropriés sont additionnés puis les membranes sont incubées à 4°C pendant 16-20h. Un lavage avec du TBS-Tw 0.01% est effectué 6x5min à température de la pièce avant la réincubation des membranes avec le 2° anticorps pour une heure à température de la pièce.

Un autre lavage avec TBS- Tw0.01% 6x5min à la température ambiante est effectué avant de couvrir les membranes avec de l'ECL *advance (enhanced chemiluminescence substrate*, General Electric). Les films sont finalement exposés aux membranes et développés. Les densités optiques des bandes obtenues sont analysées avec le logiciel *Image Quant 5.2*.

10. Statistiques :

Toutes les données obtenues à partir des SHR ont été comparées aux WKY normotendues. Les données obtenues à partir des SHR traités par moxonidine ont été comparées aux SHR non-traités. Les comparaisons ont été effectuées par un «1 way ANOVA» suivi d'un test de comparaison multiple Neuman-Keuls en utilisant le programme informatique PRISM 4.0. Les résultats sont présentés en moyenne \pm erreur standard à la moyenne. La significativité statistique a été pris tel que $P < 0.05$. Les bâtons vides correspondent au WKY, les bâtons noirs correspondent au SHR véhicules non-traités et les bâtons hachurés en noires correspondent respectivement aux rats SHR traités avec 100 ou 400 $\mu\text{g/kg/h}$ de moxonidine.

Résultats

I. Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM) :

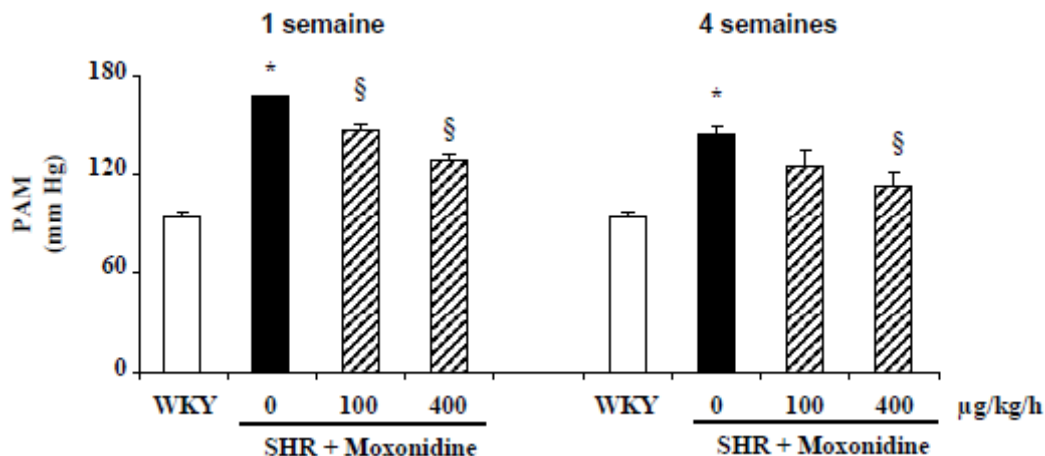


Figure 9. Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM).

Mesure de la PAM intracarotidienne (mm/Hg) des rats WKY et SHR, traités ou non traités avec moxonidine. n= 6-12 rats par groupe. *P<0.05 vs. WKY; §P<0.01 vs. véhicule.

La mesure de la pression par la méthode intra-carotidienne permet de mesurer la pression artérielle moyenne. Les SHR hypertendus comparés aux WKY normotendus avaient une pression artérielle moyenne significativement plus élevée (Figure 9).

Après une semaine de traitement chronique avec moxonidine, les 2 doses de moxonidine ont permis en une diminution de la pression artérielle moyenne. Comparés aux véhicules, la dose de moxonidine 100µg a diminué la pression artérielle moyenne (167±1 vs. 147±4 mm Hg, P<0.01) et celle de moxonidine 400µg a diminué la pression artérielle moyenne (167±1 vs. 128±5 mm Hg, P<0.01). À 4 semaines de traitement, seule la dose de

moxonidine 400 μ g a diminué la pression artérielle moyenne de façon significative (144 ± 5 vs. 113 ± 7 mm Hg, $P<0.01$) (Figure 9).

II. Mesure de la fréquence cardiaque :

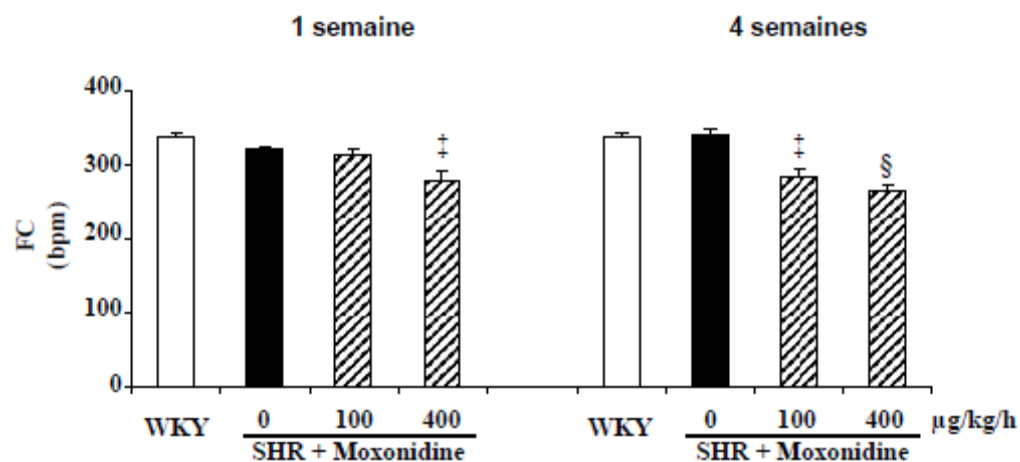


Figure 10. Mesure de la fréquence cardiaque (FC) sous anesthésie.

Mesure de la FC (bpm) des rats WKY et SHR, traités ou non traités avec moxonidine. $n= 6-12$ rats par groupes. ‡ $P<0.05$; § $P< 0.01$ vs. véhicule.

La figure 10 montre que les valeurs de la fréquence cardiaque des rats SHR et des rats WKY étaient les mêmes et n'ont pas varié chez les rats non traités durant la durée de l'expérience. La dose de moxonidine 400 μ g diminue la fréquence cardiaque par rapport aux véhicules (337 ± 7 vs. 277 ± 14 bpm, $P<0.05$) après une semaine de traitement, et les 2 doses de moxonidine ont diminué la fréquence cardiaque après 4 semaines de traitement.

III. Mesure de l'hypertrophie du ventricule gauche :

Paramètres anatomiques		SHR + Moxonidine (µg/kg/h) 1 semaine			SHR + Moxonidine (µg/kg/h) 4 semaines		
WKY		0	100	400	0	100	400
MVG (mg)	455±13	551±4*	527±25	488±8 §	595±6*	571±9 ‡	535±10 §
HVG (mg/mm)	10.1± 0.3	12.3±0.1*	11.8 ±0.6	11.0±0.2§	13.1±0.1*	12.6±0.2 ‡	11.9±0.2 §

Tableau I. Mesure des paramètres physiques.

L'effet du traitement avec moxonidine sur la masse du ventricule gauche (MVG) et l'hypertrophie du ventricule calculée par le ratio MVG/longueur du tibia (HVG). *P<0.05 vs. WKY; ‡P<0.05; §P< 0.01 vs. véhicule.

La masse du ventricule gauche (Tableau I) était plus élevée chez les SHR que les WKY. Comparé au véhicule, la dose de 100 µg de moxonidine réduit la masse du ventricule gauche après 4 semaines de traitement (595±6 vs. 571±9 mg, P<0.05) et la dose de 400 µg diminue la masse du ventricule gauche après une (551±4 vs. 488±8 mg, P<0.01) et 4 semaines de traitement (595±6 vs. 535±10 mg, P<0.01).

L'hypertrophie cardiaque (HVG) est calculée par la normalisation de la masse du ventricule gauche à la longueur du tibia. En comparant les SHR et les WKY, l'HVG montre une augmentation après une semaine (10.1±0.3 vs. 12.3±0.1 mg/mm, P<0.05) et 4 semaines (10.1±0.3 vs. 13.1±0.1 mg/mm; P<0.05). L'HVG est diminuée par la dose de 400 µg après une semaine de traitement et par les 2 doses après 4 semaines de traitement (Tableau I).

IV. Mesure de la surface des cardiomyocytes :

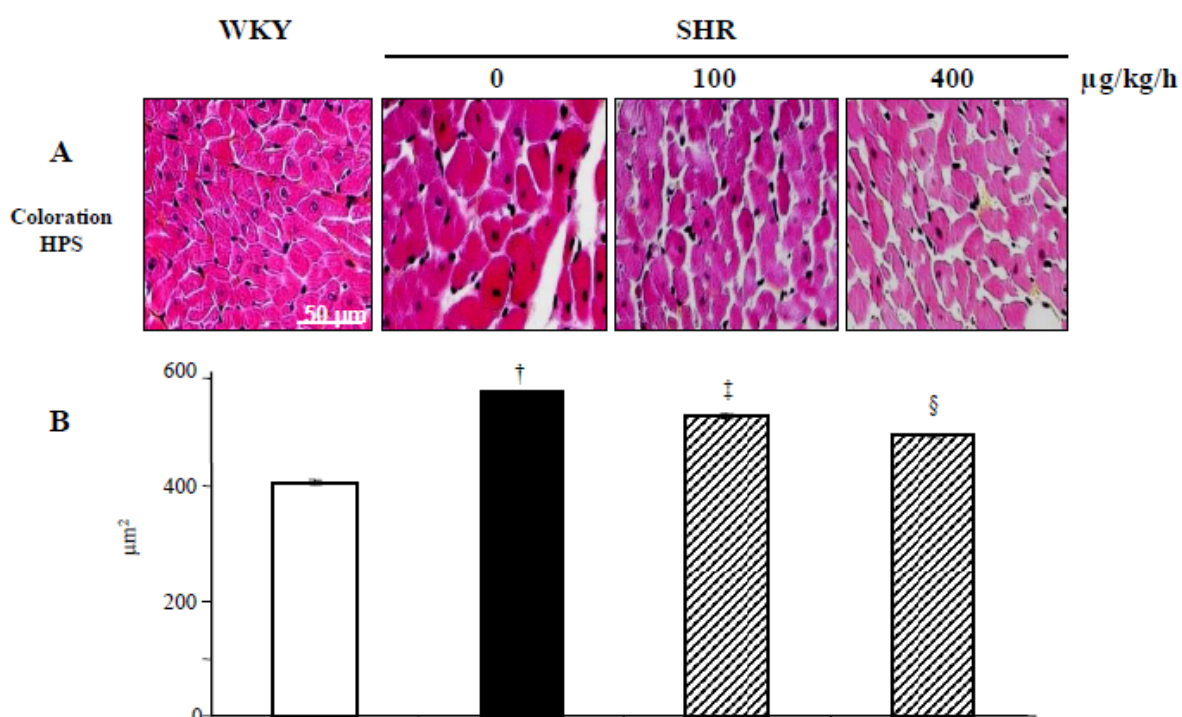


Figure 11. Coupes transversales des cœurs et mesures de la surface des cardiomyocytes.

Les photomicrographies des coupes transversales des cœurs des rats WKY et SHR, traités ou non traités, après coloration par HPS (Hématoxyline-phloxine-safran). A) coupes des cœurs, B) mesure de la surface des cardiomyocytes en μm^2 . Grossissement 200X. n= 4-6 rats par groupe. †P<0.01 vs. WKY; ‡P<0.05; §P< 0.01 vs. véhicule.

En mesurant la surface des cardiomyocytes sur des coupes transversales de cœur, la surface des cardiomyocytes des SHR était plus élevée que celle des WKY (407.1 ± 3.7 vs. $565.2 \pm 1.8 \mu\text{m}^2$, $P < 0.01$) (Figure 11) confirmant et renforçant ainsi la mise en évidence d'une hypertrophie des cardiomyocytes. Le traitement avec les deux doses de moxonidine pendant 4 semaines montre une diminution dose-dépendante de cette surface/hypertrophie

(565.2 ± 1.8 vs. 522.2 ± 4.5 μm^2 , $P < 0.05$ et 565.2 ± 1.8 vs. 487.7 ± 2.9 μm^2 , $P < 0.01$; respectivement) (Figure 11) confirmant la diminution de l'hypertrophie.

V. Mesure du dépôt de collagène :

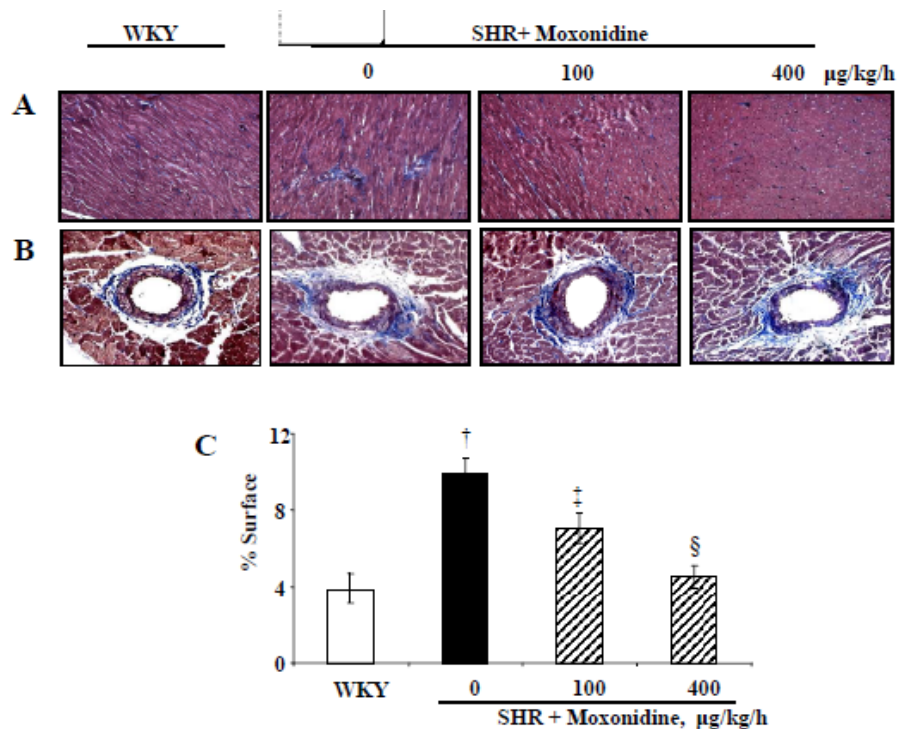


Figure 12. Coupes histologiques et mesures du dépôt de collagène.

Les photomicrographies représentatives des coupes de cœurs des rats WKY et SHR, traités ou non traités avec moxonidine, colorés par la coloration de Trichrome de Masson. Le dépôt de collagène est coloré en bleu, A) interstitiel, B) périvasculaire, C) le pourcentage du dépôt de collagène interstitiel et périvasculaire par rapport à la superficie totale. Grossissement 200X. n= 4-6 rats par groupe. [†] $P < 0.01$ vs. WKY; [‡] $P < 0.05$; [§] $P < 0.01$ vs. véhicule.

La coloration des coupes histologiques par le trichrome de Masson permet de visualiser le dépôt de collagène en bleu. Les dépôts de collagène interstitiel (Figure 12. A)

et périvasculaire (Figure 12. B) étaient plus élevés dans les SHR que les WKY et les deux doses de traitement diminuent les 2 types de fibrose. De plus, la mesure du dépôt de collagène total en pourcentage par rapport à la surface a été diminuée par le traitement (Figure 12. C).

VI. L'expression protéique de l' α -SMA :

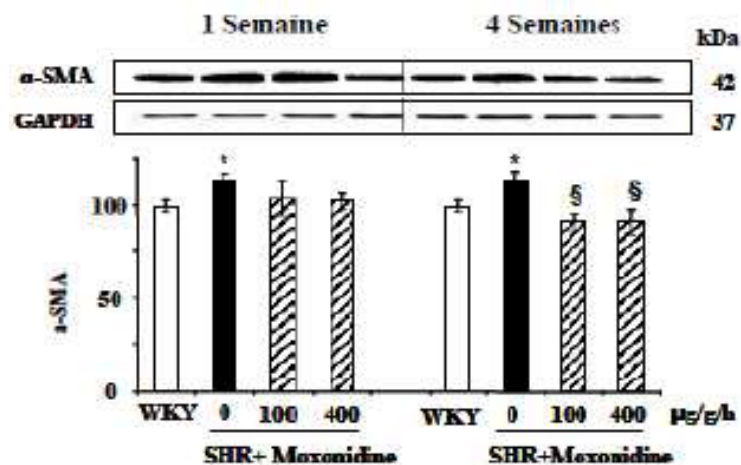


Figure 13. L'expression protéique du marqueur phénotypique des myofibroblastes. n= 6-12 rats par groupe. *P<0.05 vs. WKY; §P< 0.01 vs. véhicule.

La protéine α -SMA est un marqueur phénotypique des myofibroblastes en réponse au stress cellulaire et inflammatoire, qui confère une rigidité au myocarde. L'expression protéique de l' α -SMA était élevée chez les SHR en les comparant aux WKY (P<0.01). Les 2 doses de moxonidine ont réduit l'expression protéique de l' α -SMA après 4 semaines de traitement (Figure 13).

VII. Les concentrations plasmatiques des cytokines pro-inflammatoires :

a. IL-1 β :

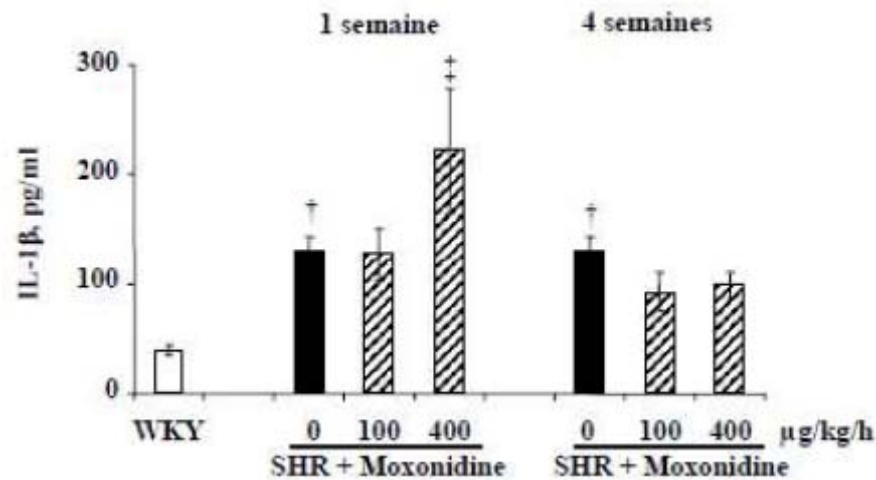


Figure 14. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β .

n= 9-16 rats par groupe. *P<0.01 vs. WKY; ‡P<0.05 vs. véhicule.

Les figures 14 et 15 montrent que la teneur sérique des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β et IL-6 étaient significativement plus élevées chez les SHR que chez les WKY (P<0.01). Après une semaine de traitement, la dose de 400 μ g/kg/h augmente la concentration d'IL- β (P<0.05) (Figure 14). Après 4 semaines, aucun changement significatif n'a été remarqué chez les rats traités avec les 2 doses, mais les deux doses semblaient avoir une tendance à diminuer les concentrations plasmatiques de l'IL-1 β (Figure 14).

b. IL-6 :

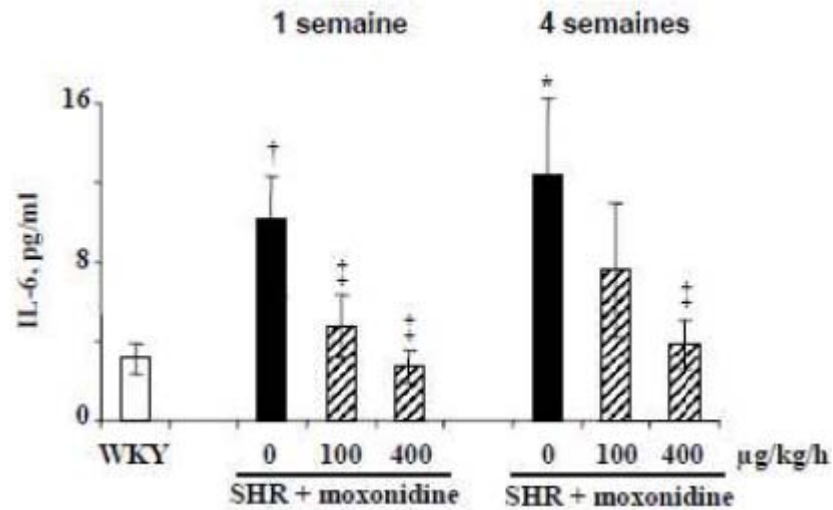


Figure 15. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire IL-6.

n= 9-16 rats par groupe. *P<0.05; †P<0.01 vs. WKY; ‡P<0.05 vs. véhicule.

Au contraire, les deux doses de moxonidine étaient capable de diminuer la teneur plasmatique de l'IL-6 ($P<0.05$) après une semaine de traitement (Figure 15), et seule la dose de 400µg a diminué d'une manière significative les concentrations plasmatiques de l'IL-6 ($P<0.05$) après 4 semaines de traitement (Figure 15).

c. **TNF- α** :

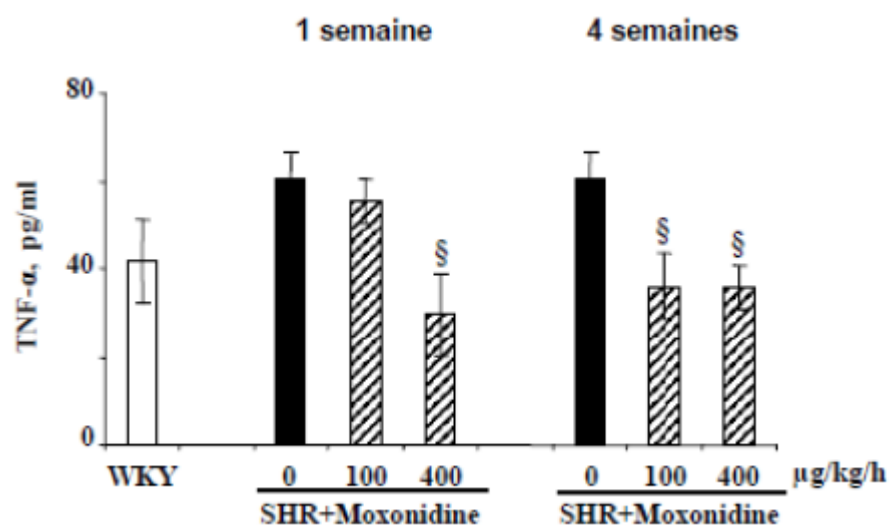


Figure 16. L'effet du traitement avec moxonidine sur la concentration plasmatique de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α .

n= 9-16 rats par groupe. §P<0.01 vs. véhicule.

Les concentrations plasmatiques de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α (Figure 16) chez les SHR étaient plus élevées que ceux des WKY sans atteindre un seuil significatif. Suite à une semaine de traitement, seule la dose la plus élevée diminue les concentrations de TNF- α (P<0.01). Après 4 semaines de traitement, les 2 doses étaient capables de diminuer les concentrations plasmatiques de TNF- α (P<0.01).

VIII. Mesure de l'expression protéique des différentes protéines de signalisation :

a. P-Akt :

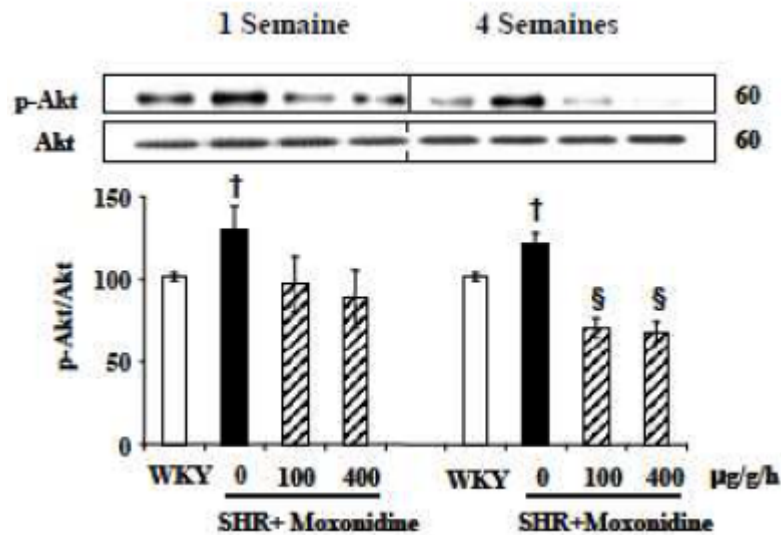


Figure 17. L'expression protéique de P-Akt (Ser473) suite au traitement chronique par moxonidine.

n= 6-12 rats par groupe. †P<0.01 vs. WKY; §P<0.01 vs. véhicule.

La phosphorylation/activation de l'Akt (Ser473) était plus élevée chez les rats SHR après une et quatre semaines comparés à ceux des WKY. Après une semaine de traitement avec moxonidine 100 ou 400 μg/kg/h, la phosphorylation/activation était diminuée sans atteindre des valeurs significatives. Après quatre semaines de traitement, la phosphorylation/activation de l'Akt était réduite significativement à des niveaux même inférieurs à celui des rats WKY normotendus (P<0.01) (Figure 17).

b. P-p38 :

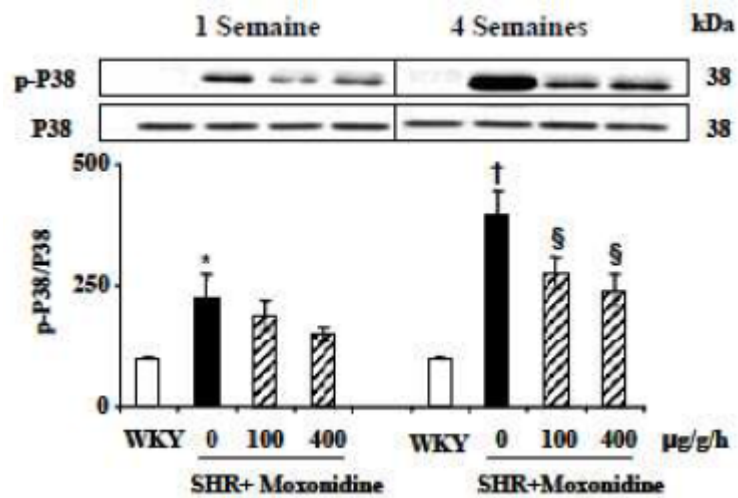


Figure 18. L'expression protéique P-p38 suite au traitement chronique par moxonidine.

n= 6-12 rats par groupe. *P<0.05; †P<0.01 vs. WKY; §P<0.01 vs. véhicule.

La MAPK p38 pro-inflammatoire et hypertrophique, présentait une phosphorylation/activation assez élevée après une semaine, et de plus en plus élevée à 4 semaines. Le traitement avec moxonidine après une semaine a réduit la phosphorylation d'une manière non significative (Figure 18). Après 4 semaines de traitement, les deux doses de moxonidine ont diminué la phosphorylation/activation de p38 (P<0.01) (Figure 18).

IX. Paramètres échocardiographiques :

a. Fonction diastolique :

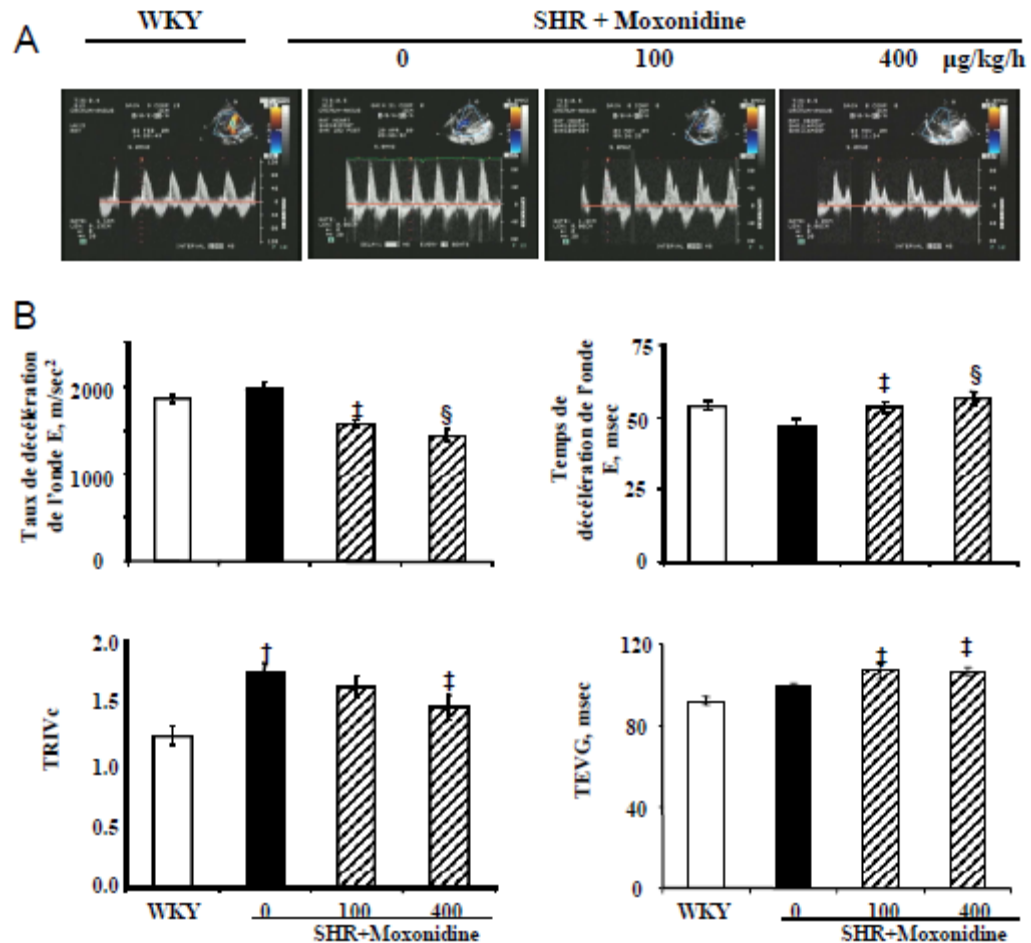


Figure 19 : Mesures échocardiographiques des paramètres diastoliques.

A. Images écho-doppler représentatives des paramètres de la fonction diastolique chez les WKY et les SHR. B. Les diagrammes représentant des résultats obtenus après un traitement de 4 semaines. TRIVc : temps de relaxation isovolumétrique corrigé à l'intervalle R-R; TEVG : temps d'éjection du ventricule gauche. n= 10-11 rats par groupe.

† P<0.01 vs. WKY; ‡ P<0.05 vs. véhicule; § P<0.01 vs. véhicule.

La fonction diastolique est mesurée par doppler transmitral montrant ainsi la diastole qui comprend le remplissage passif des oreillettes aux ventricules, suivi par la contraction des oreillettes (figure 19. A.).

Le taux de décélération de l'onde E était conservé chez les SHR comparés aux SHR, mais le traitement des SHR avec les deux doses de moxonidine diminue ce taux. Le temps de décélération de l'onde E était légèrement diminué chez les SHR et le traitement avec les deux doses de moxonidine normalise cette diminution. Le temps de relaxation isovolumétrique corrigé à l'intervalle R-R était prolongé chez les SHR, ce qui montre une diminution de la compliance ventriculaire. Le traitement avec les deux doses de moxonidine diminue le TRIVc démontrant ainsi l'amélioration de la fonction diastolique. D'autre part, le temps d'éjection du ventricule gauche était prolongé chez les SHR traités par les deux doses de moxonidine, ce qui montre une amélioration de la performance diastolique (Figure 19. B).

b. Autres paramètres échocardiographiques :

Tableau II : Mesures échocardiographiques après quatre semaines de traitement.

Paramètres échocardiographiques	WKY	SHR + Moxonidine ($\mu\text{g/kg/h}$)		
	0	0	100	400
DTS (mm)	2.3 \pm 0.01	2.7 \pm 0.1	2.8 \pm 0.2	2.9 \pm 0.1
DTD (mm)	5.8 \pm 0.1	5.6 \pm 0.1	6.0 \pm 0.0	5.8 \pm 0.0
PA (mm)	1.7 \pm 0.1	1.8 \pm 0.1	1.7 \pm 0.0	1.7 \pm 0.1
PP (mm)	2.1 \pm 0.1	2.3 \pm 0.0	2.2 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1
ERP	0.72 \pm 0.04	0.83 \pm 0.03*	0.68 \pm 0.06†	0.68 \pm 0.07†
Volume télésystolique (ml)	0.04 \pm 0.00	0.06 \pm 0.00*	0.07 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01
Volume télédiastolique (ml)	0.69 \pm 0.04	0.63 \pm 0.02	0.76 \pm 0.04‡	0.70 \pm 0.03
Fraction de raccourcissement (%)	60.4 \pm 0.9	52.8 \pm 0.7‡	54.1 \pm 1.4	50.7 \pm 1.8
Fraction d'éjection (%)	92.4 \pm 0.4	91.3 \pm 0.4	91.0 \pm 0.7	88.5 \pm 1.2
Indice systolique (ml/100g)	0.39 \pm 0.02	0.29 \pm 0.01*	0.36 \pm 0.02‡	0.35 \pm 0.02‡
Indice cardiaque (ml.min/100g)	124 \pm 8	98 \pm 6*	98 \pm 8	87 \pm 5
IPMVG	0.17 \pm 0.02	0.32 \pm 0.02*	0.31 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02†

DTD, diamètre télédiastolique; DTS, diamètre télésystolique; PA, paroi antérieure; PP, paroi postérieure; ERP, épaisseur relative de la paroi; IPMVG, index de la performance myocardique du ventricule gauche.

*P<0.05 vs. WKY; †P<0.05, ‡ P<0.01 vs. véhicule correspondant.

La fonction systolique mesurée par la fraction d'éjection et la fraction de raccourcissement est demeurée inchangée au cours du traitement. L'épaisseur relative de la paroi était élevée chez les rats SHR et ensuite diminuée par le traitement avec les

deux doses de moxonidine, reflétant ainsi la diminution de l'hypertrophie. L'index de la performance myocardique du ventricule gauche élevée chez les SHR était diminué suite au traitement avec la dose la plus élevée de moxonidine (Tableau II).

Discussion

Cette étude révèle que le traitement chronique avec la moxonidine des SHR pendant un mois améliore la structure et la performance cardiaque. Ces améliorations des paramètres diastoliques et de la performance globale du cœur sont accompagnées d'une réduction de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque, de l'hypertrophie du ventricule gauche, de la fibrose cardiaque ainsi qu'une réduction des niveaux plasmatiques des cytokines inflammatoires $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 et de l'expression tissulaire des protéines de signalisation impliqués dans la croissance/mort cellulaire, plus précisément, l'Akt et la MAPK p38 au niveau du ventricule gauche. La concentration de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β était normalisée suite à une élévation transitoire après une semaine de traitement.

La durée du traitement a été divisée en deux : une et 4 semaines. Cette différence dans la durée s'est avérée nécessaire pour mieux comprendre l'effet apoptotique transitoire de la moxonidine observé après une semaine de traitement chronique. Le traitement chronique des SHR pendant une semaine a montrée une diminution de l'hypertrophie. Paquette et al. (2008) avaient déjà démontré que le traitement chronique avec moxonidine régresse l'HVG et cela en présence d'une élévation transitoire de la fragmentation de l'ADN du ventricule gauche au cours de la première semaine (Paquette et al., 2008). Dans cette étude, cette élévation de la fragmentation de l'ADN après une semaine est appuyée par l'élévation de la concentration cytoplasmique de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β

après 1 semaine de traitement. En effet, plusieurs études ont rapporté une relation cruciale entre la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β et la mort cellulaire (Ing et al., 1999).

Le traitement chronique avec moxonidine pendant 4 semaines entraîne une diminution de l'HVG. Cette régression peut être liée à des changements qui surviennent dans les 2 types de cellules cardiaques principales : les fibroblastes et les cardiomyocytes. Dans la présente étude, on a trouvé une diminution de la surface des cardiomyocytes des SHR suite au traitement chronique par la moxonidine. Il est bien connu que la moxonidine inhibe le SNS (Esler et al., 2004; Wenzel et al., 1998) et la libération des catécholamines et de la rénine plasmatique (Kirch et al., 1990; Mitrovic et al., 1991), et donc cette diminution peut être associée à la diminution de l'activité du SNS et la diminution de la libération excessive de la NE qui sont intimement impliqués dans le développement de l'HVG (Schlaich et al., 2003).

De plus, la diminution de l'HVG par la moxonidine peut être associée à d'autres facteurs, par exemple, la modification de la voie inflammatoire notamment les cytokines inflammatoires (Bozkurt et al., 1998; Melendez et al., 2010; Thaik et al., 1995). Chez les SHR, les niveaux plasmatiques des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , TNF- α et IL-6 étaient élevés par rapport aux WKY. La moxonidine a pu réduire d'une façon significative les taux plasmatiques élevés de TNF- α et d'IL-6. De même, la moxonidine a pu diminuer les niveaux plasmatiques d'IL-1 β à des valeurs qui ne touchent pas la significativité mais qui s'opposent aux élévations remarquables observées après une semaine de traitement.

Cette réduction des cytokines peut être liée à des effets indirects de la monoxidine tels qu'une diminution de la libération de la NE et l'inactivation subséquente des récepteurs

β -adrénergiques, qui une fois activés, permettent une libération systémique d'IL-1 β et de TNF- α (Kumar et al., 2009). Cette diminution des cytokines peut être aussi liée à des effets directs de moxonidine sur les cellules qui les sécrètent tels que les macrophages, les cardiomyocytes et les fibroblastes.

Les MAPKs et l'activation d'Akt ont été évalués dans les cœurs des WKY et des SHR avec et sans traitement avec moxonidine. Nos résultats n'ont pas montré des changements au niveau de la phosphorylation/activation de la MAPK JNK, mais à une élévation de la phosphorylation/activation des MAPKs ERK et p38 ainsi que de l'Akt dans les cœurs des SHR. L'hypertension, associée aux neurohormones, aux facteurs de croissance et aux cytokines, active les MAPKs et la cascade de signalisation de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt. Les MAPKs, y compris les ERK, la p38 et les JNK, ont des fonctions distinctes: l'activation de ERK1/2 induit la prolifération cellulaire et la survie, alors que les JNK et p38 sont impliquées dans l'inflammation et la croissance cellulaire, la différenciation, la migration et l'apoptose (Adams et al., 1998). Akt (ou PKB), une sérine/thréonine kinase de l'action anti-apoptotique puissant *in vitro* et *in vivo*, est une cible en aval de la PI3K et est liée à une hyperplasie, à une hypertrophie des cardiomyocytes et à une prolifération accrue des fibroblastes et à la synthèse du collagène dans les fibroblastes (Colombo et al., 2003; Oudit et al., 2004). Des études ultérieures ont montré que l'HVG est associée à une élévation de l'activation de la MAPK p38 et de l'Akt. Streicher et al. (2010) ont démontré *in vivo* que la surexpression de la MAPK p38 dans les cœurs de souris mène à l'apparition rapide d'une cardiomyopathie létale associée à une hypertrophie des cardiomyocytes. Aussi, ils ont démontré *in vitro*, que la transfection

adénovirale des cardiomyocytes ventriculaires des rats nouveau-nés avec un activateur de la MAPK p38, contribue au développement de l'hypertrophie pathologique (Streicher et al., 2010). De même, les cytokines activent la p38 qui, à son tour, stimule la libération de cytokines pro-inflammatoires (Fotheringham et al., 2004), un mécanisme par lequel la p38 contribue à la mort cellulaire des myocytes (Dhingra et al., 2007).

D'autre part, l'activation de la MAPK ERK et d'Akt réduit la mort des cardiomyocytes et protège contre les lésions de reperfusion suite à une ischémie (Fujio et al., 2000), mais l'activation soutenue d'Akt produit une transition de l'hypertrophie adaptée vers une hypertrophie inadaptée (Taniyama et al., 2005). Nos résultats montrent que le traitement avec moxonidine diminue l'activation de la MAPK p38 et d'Akt associées à l'hypertension sans affecter la MAPK ERK. Cela peut donc contribuer à la diminution de l'hypertrophie associée à l'hypertension ainsi qu'à l'amélioration de la performance cardiaque. Ces résultats sont en accord avec d'autres études démontrant que l'inhibition spécifique de la MAPK p38 par SB203580 régresse l'hypertrophie (Bao et al., 2007; Behr et al., 2001) et que les traitements qui diminuent l'activité de la MAPK p38 améliore la performance cardiaque (Bartha et al., 2009; Liang et al., 2006), ainsi que l'atténuation de la phosphorylation élevée d'Akt, en bloquant m(TOR) en aval d'Akt et régresse l'HVG (Soesanto et al., 2009).

L'hypertrophie des myocytes est accompagnée d'un degré adéquat d'une fibrose du myocarde pour prévenir la déformation du ventricule. Toutefois, l'élévation prolongée du travail cardiaque résulte en une hypertrophie excessive des myocytes et une fibrose du myocarde disproportionnée (Weber and Brilla, 1991). Durant la phase précoce de la

maladie cardiaque hypertensive, on peut observer la présence de tissu fibreux, principalement dans l'espace périvasculaire. La fibrose périvasculaire s'étend ensuite de l'espace périvasculaire à l'espace interstitiel entourant les fibres musculaires. Ce type de fibrose est connu sous le nom de « la fibrose réactive » (Weber et al., 1993). Des études ultérieures ont démontré que la croissance des fibroblastes et l'élévation de l'infiltration des macrophages dans les tissus périvasculaires sont responsables de l'augmentation du dépôt en collagène dans les cœurs hypertrophiés des SHR et de modèle de rats d'hypertension rénovasculaire (Hinglais et al., 1994; Nicoletti et al., 1996). Ces observations soulèvent l'hypothèse que le processus inflammatoire, en plus du rôle des fibroblastes et des myofibroblastes, joue un rôle dans le remodelage du myocarde hypertendu. Nos résultats montrent que le traitement des SHR avec la moxonidine diminue le dépôt de collagène interstitiel et périvasculaire, les concentrations des cytokines IL-6 et TNF- α et la phosphorylation de l'AKT et de la p38. Ces résultats permettent de corréliser cette diminution avec trois étapes principales : l'élévation des concentrations des cytokines pro-inflammatoires, la transformation des fibroblastes en myofibroblastes, et l'augmentation de la phosphorylation des protéines de signalisation tel que la p38 et l'Akt.

De plus, la diminution des niveaux plasmatiques de l'IL-6 peut être reliée directement à la diminution de la fibrose. Cela est en accord avec plusieurs études antérieures reliant l'IL-6 à la fibrose. Notamment, les travaux de Meléndez et al. (2010) qui ont démontré que le traitement des fibroblastes avec l'IL-6 et le récepteur soluble de l'IL-6 est essentiel pour l'élévation de la sécrétion de collagène par des fibroblastes isolées ainsi que leur rôle primordial dans la médiation de la conversion phénotypique en

myofibroblastes (Melendez et al., 2010). Le rôle de la cytokine pro-inflammatoire TNF- α , diminuée par la moxonidine, peut aussi avoir contribué dans cette diminution, mais son rôle reste ambigu. L'infusion continue de TNF- α dans des rats Sprague Dawley a démontré qu'elle produisait des effets nuisibles sur la fonction et la structure du cœur sans élever la fibrose mais au contraire, TNF- α augmente la dégradation du collagène menant ainsi au remodelage cardiaque (Bozkurt et al., 1998). Cependant, d'autres études ont démontré que la surexpression de TNF- α dans le cœur de souris induit la fibrose cardiaque (Kubota et al., 1997; Sivasubramanian et al., 2001).

Les myofibroblastes représentent des fibroblastes de phénotype transformés caractérisés par l'expression de la protéine du cytosquelette musculaire, l'actine- α du muscle lisse (α SMA) (Dugina et al., 1998). Petrov et al. (2002) ont démontré que les myofibroblastes produisent plus de collagène que leur progéniture, les fibroblastes. Le traitement chronique de 4 semaines avec moxonidine a réduit l'expression de cette protéine en suggérant ainsi un effet sur les myofibroblastes et leur rôle dans l'altération de la matrice extracellulaire (Petrov et al., 2002).

D'autre part, la MAPK p38 diminuée suite au traitement par moxonidine exerce un rôle profibrotique aussi bien qu'un rôle hypertrophique. L'utilisation de transgénèses ciblées a montré que l'activation de p38 dans des myocytes ventriculaires est suffisante pour induire une cardiomyopathie fibreuse interstitielle marquée (Liao et al., 2001). L'augmentation de l'expression de la MAPK p38 médie un remodelage cardiaque induit par une fibrose interstitielle et une altération de la biosynthèse/dégradation de la matrice extracellulaire. Liang et al. (2006) ont démontré que l'inversion du remodelage cardiaque

du VG démontre une forte corrélation entre la signalisation de p38 et l'HVG chez les rats SHHF (*Spontaneously Hypertensive Heart Failure rats*) (Liang et al., 2006). De même, la diminution de la fibrose est encore associée à la diminution de l'activation de l'Akt. L'activation soutenue de l'Akt résulte en une progression d'une hypertrophie et d'une fibrose adaptées vers une hypertrophie et une fibrose inadaptées (Taniyama et al., 2005).

Les résultats déjà cités sont reliés à l'amélioration de la structure cardiaque et peuvent aussi être reliés à l'amélioration de la fonction et la performance cardiaque (Bartha et al., 2009; Bozkurt et al., 1998; Kumar et al., 2009) puisque ces améliorations sont accompagnées par des résultats similaires. Mais plus précisément, les mesures directes des paramètres pour évaluer la performance cardiaque et l'effet de moxonidine sur cette performance sont réalisées par échographie et Doppler. Le traitement avec moxonidine pendant un mois améliore la fonction diastolique et la performance cardiaque globale dans les cœurs de rats hypertendus. Pour les doses testées, la moxonidine a amélioré les paramètres de la fonction diastolique, même après correction des changements de la fréquence cardiaque. La dose la plus élevée a atténué le temps de relaxation isovolumétrique corrigé à la fréquence cardiaque (IVRTc) et réduit l'index de performance myocardique du ventricule gauche (LVMPI), un indice calculé, qui comprend les effets systoliques et diastoliques cardiaques indépendamment de toute influence de la fréquence cardiaque.

Conclusion et perspectives

En conclusion, cette étude démontre que les effets bénéfiques de la moxonidine s'étendent au-delà de la réduction de la pression artérielle et améliorent la performance cardiaque. L'effet apoptotique transitoire de la moxonidine observé précédemment (Paquette et al., 2008), n'a pas conduit à une détérioration de la fonction cardiaque. Au contraire, il pourrait s'agir d'une apoptose thérapeutique qui cible une sous-population de cellules sensibles très probablement les macrophages et les myofibroblastes (Deblois et al., 2005); ainsi, la réduction de la sécrétion de cytokines et de l'accumulation de collagène. Cet effet anti-inflammatoire, en plus de la fragmentation de l'ADN atténué et de la synthèse des protéines réduites par la moxonidine (Paquette et al., 2008), atténue l'hypertrophie cardiaque et la fibrose et améliore la fonction cardiaque.

Les effets observés suite au traitement des SHR avec une dose non hypotensive de moxonidine (100µg/kg/h) étaient assez remarquables. L'utilisation de cette dose a démontré une diminution de l'hypertrophie, de la surface des cardiomyocytes, du dépôt de collagène, de l'expression de la protéine α -SMA, de la concentration cytoplasmique de TNF- α , de la phosphorylation/activation de la MAPK p38 et de l'Akt après 4 semaines de traitement ainsi que la diminution du niveau cytoplasmique de la cytokine pro-inflammatoire IL-6 après une semaine de traitement. Puisque ces effets ne sont pas accompagnés par une diminution de la pression artérielle, et donc par une surcharge de pression et de volume,

cela suggère un effet local, au niveau cellulaire, de la moxonidine, qui est un agoniste des RI_1 autre que son effet central. Effectivement, notre laboratoire a mis en évidence la présence des RI_1 dans le cœur (El-Ayoubi et al., 2002). D'autres expériences faites dans notre laboratoire ont permis de montrer la présence des RI_1 dans les fibroblastes et les cardiomyocytes. Pour évaluer l'hypothèse d'un effet local des RI_1 et de leur agoniste qu'est la moxonidine, d'autres expériences doivent être élaborées.

Ces expériences consisteraient en l'isolation des cardiomyocytes et des fibroblastes ventriculaires de rats nouveau-nés et de leur stimulation avec des stimuli impliqués dans l'hypertension et l'HVG tels que les stimuli adrénergiques et les cytokines pro-inflammatoires en présence ou en absence de moxonidine pour détecter les effets de ces stimuli ainsi que du traitement avec moxonidine sur les protéines de signalisation tels que les MAPKs (ERK, JNK, p38) et l'Akt. De plus, il serait intéressant de tester la prolifération/viabilité de ces cellules par MTT et de l'apoptose par FACS, suite à des traitements similaires. Pour attribuer ces effets aux RI_1 l'utilisation d'un antagoniste des RI_1 tels que l'AGN 192403 (Munk et al., 1996) ou l'éfaroxan (Egan and Filer, 2003) serait nécessaires. Outre les cardiomyocytes et les fibroblastes, ces études devraient prendre en considération l'effet de la moxonidine sur les monocytes et les macrophages puisque les cytokines sont principalement synthétisées par ces cellules.

Bibliographie

Aaronson, K.D., and Sackner-Bernstein, J. (2006). Risk of death associated with nesiritide in patients with acutely decompensated heart failure. *JAMA* 296, 1465-1466.

Adams, J.W., Sakata, Y., Davis, M.G., Sah, V.P., Wang, Y., Liggett, S.B., Chien, K.R., Brown, J.H., and Dorn, G.W., 2nd (1998). Enhanced G α q signaling: a common pathway mediates cardiac hypertrophy and apoptotic heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 10140-10145.

Ahlquist, R.P. (1948). A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153, 586-600.

Akiyama-Uchida, Y., Ashizawa, N., Ohtsuru, A., Seto, S., Tsukazaki, T., Kikuchi, H., Yamashita, S., and Yano, K. (2002). Norepinephrine enhances fibrosis mediated by TGF- β in cardiac fibroblasts. *Hypertension* 40, 148-154.

Ancey, C., Corbi, P., Froger, J., Delwail, A., Wijdenes, J., Gascan, H., Potreau, D., and Lecron, J.C. (2002). Secretion of IL-6, IL-11 and LIF by human cardiomyocytes in primary culture. *Cytokine* 18, 199-205.

Arimoto, T., Takeishi, Y., Takahashi, H., Shishido, T., Niizeki, T., Koyama, Y., Shiga, R., Nozaki, N., Nakajima, O., Nishimaru, K., *et al.* (2006). Cardiac-specific overexpression of diacylglycerol kinase ζ prevents Gq protein-coupled receptor agonist-induced cardiac hypertrophy in transgenic mice. *Circulation* 113, 60-66.

Atlas, S.A. (2007). The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm* 13, 9-20.

Aurigemma, G.P., and Gaasch, W.H. (2004). Clinical practice. Diastolic heart failure. *N Engl J Med* 351, 1097-1105.

Bao, W., Behm, D.J., Nerurkar, S.S., Ao, Z., Bentley, R., Mirabile, R.C., Johns, D.G., Woods, T.N., Doe, C.P., Coatney, R.W., *et al.* (2007). Effects of p38 MAPK Inhibitor on angiotensin II-dependent hypertension, organ damage, and superoxide anion production. *J Cardiovasc Pharmacol* 49, 362-368.

Barki-Harrington, L., Perrino, C., and Rockman, H.A. (2004). Network integration of the adrenergic system in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res* 63, 391-402.

Bartha, E., Solti, I., Kereskai, L., Lantos, J., Plozer, E., Magyar, K., Szabados, E., Kalai, T., Hideg, K., Halmosi, R., *et al.* (2009). PARP inhibition delays transition of hypertensive cardiopathy to heart failure in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 83, 501-510.

Baumgarten, G., Knuefermann, P., Kalra, D., Gao, F., Taffet, G.E., Michael, L., Blackshear, P.J., Carballo, E., Sivasubramanian, N., and Mann, D.L. (2002). Load-dependent and -independent regulation of proinflammatory cytokine and cytokine receptor gene expression in the adult mammalian heart. *Circulation* 105, 2192-2197.

Behr, T.M., Nerurkar, S.S., Nelson, A.H., Coatney, R.W., Woods, T.N., Sulpizio, A., Chandra, S., Brooks, D.P., Kumar, S., Lee, J.C., *et al.* (2001). Hypertensive end-organ damage and premature mortality are p38 mitogen-activated protein kinase-dependent in a rat model of cardiac hypertrophy and dysfunction. *Circulation* 104, 1292-1298.

Benfey, B.G. (1990). Function of myocardial alpha-adrenoceptors. *Life Sci* 46, 743-757.

Benjamin, I.J., Jalil, J.E., Tan, L.B., Cho, K., Weber, K.T., and Clark, W.A. (1989). Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 65, 657-670.

Bhambi, B., and Eghbali, M. (1991). Effect of norepinephrine on myocardial collagen gene expression and response of cardiac fibroblasts after norepinephrine treatment. *Am J Pathol* 139, 1131-1142.

Bo, S., Ciccone, G., Baldi, I., Gambino, R., Mandrile, C., Durazzo, M., Gentile, L., Cassader, M., Cavallo-Perin, P., and Pagano, G. (2009). Plasma visfatin concentrations after a lifestyle intervention were directly associated with inflammatory markers. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 19, 423-430.

Bohmann, C., Schollmeyer, P., and Rump, L.C. (1994). Effects of imidazolines on noradrenaline release in rat isolated kidney. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 349, 118-124.

Boon, D., van Goudoever, J., Piek, J.J., and van Montfrans, G.A. (2003). ST segment depression criteria and the prevalence of silent cardiac ischemia in hypertensives. *Hypertension* 41, 476-481.

Bousquet, P., Feldman, J., and Schwartz, J. (1984). Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J Pharmacol Exp Ther* 230, 232-236.

Bozkurt, B., Kribbs, S.B., Clubb, F.J., Jr., Michael, L.H., Didenko, V.V., Hornsby, P.J., Seta, Y., Oral, H., Spinale, F.G., and Mann, D.L. (1998). Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation* 97, 1382-1391.

Briest, W., Rassler, B., Deten, A., Leicht, M., Morwinski, R., Neichel, D., Wallukat, G., Ziegelhoffer, T., and Zimmer, H.G. (2003). Norepinephrine-induced interleukin-6 increase in rat hearts: differential signal transduction in myocytes and non-myocytes. *Pflugers Arch* 446, 437-446.

Brown, R.D., Jones, G.M., Laird, R.E., Hudson, P., and Long, C.S. (2007). Cytokines regulate matrix metalloproteinases and migration in cardiac fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 362, 200-205.

Bueno, O.F., De Windt, L.J., Tymitz, K.M., Witt, S.A., Kimball, T.R., Klevitsky, R., Hewett, T.E., Jones, S.P., Lefer, D.J., Peng, C.F., *et al.* (2000). The MEK1-ERK1/2 signaling pathway promotes compensated cardiac hypertrophy in transgenic mice. *EMBO J* 19, 6341-6350.

Burger, A., Benicke, M., Deten, A., and Zimmer, H.G. (2001). Catecholamines stimulate interleukin-6 synthesis in rat cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281, H14-21.

Burnier, M. (2001). Novel angiotensin II inhibitors in cardiovascular medicine. *Expert Opin Investig Drugs* 10, 1957-1964.

Burns, J., Sivananthan, M.U., Ball, S.G., Mackintosh, A.F., Mary, D.A., and Greenwood, J.P. (2007). Relationship between central sympathetic drive and magnetic resonance imaging-determined left ventricular mass in essential hypertension. *Circulation* 115, 1999-2005.

Bursi, F., Weston, S.A., Redfield, M.M., Jacobsen, S.J., Pakhomov, S., Nkomo, V.T., Meverden, R.A., and Roger, V.L. (2006). Systolic and diastolic heart failure in the community. *JAMA* 296, 2209-2216.

Chae, H., Lee, J., Byun, J., Jung, W., Kwak, Y., Chae, S., and Kim, H. (2001). Blockade of p38 mitogen-activated protein kinase pathway inhibits interleukin-6 release and expression in primary neonatal cardiomyocytes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 110, 209-228.

Charron, F., Tsimiklis, G., Arcand, M., Robitaille, L., Liang, Q., Molkentin, J.D., Meloche, S., and Nemer, M. (2001). Tissue-specific GATA factors are transcriptional effectors of the small GTPase RhoA. *Genes Dev* 15, 2702-2719.

Chesley, A., Lundberg, M.S., Asai, T., Xiao, R.P., Ohtani, S., Lakatta, E.G., and Crow, M.T. (2000). The beta(2)-adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase. *Circ Res* 87, 1172-1179.

Chien, K.R. (2000). Genomic circuits and the integrative biology of cardiac diseases. *Nature* 407, 227-232.

Clerk, A., and Sugden, P.H. (2001). Untangling the Web: specific signaling from PKC isoforms to MAPK cascades. *Circ Res* 89, 847-849.

Colombo, F., Gosselin, H., El-Helou, V., and Calderone, A. (2003). Beta-adrenergic receptor-mediated DNA synthesis in neonatal rat cardiac fibroblasts proceeds via a

phosphatidylinositol 3-kinase dependent pathway refractory to the antiproliferative action of cyclic AMP. *J Cell Physiol* 195, 322-330.

Communal, C., Singh, K., Sawyer, D.B., and Colucci, W.S. (1999). Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein. *Circulation* 100, 2210-2212.

Daaka, Y., Luttrell, L.M., and Lefkowitz, R.J. (1997). Switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature* 390, 88-91.

Datta, S.R., Brunet, A., and Greenberg, M.E. (1999). Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev* 13, 2905-2927.

Davis, F.J., Pillai, J.B., Gupta, M., and Gupta, M.P. (2005). Concurrent opposite effects of trichostatin A, an inhibitor of histone deacetylases, on expression of alpha-MHC and cardiac tubulins: implication for gain in cardiac muscle contractility. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288, H1477-1490.

de Gasparo, M., Catt, K.J., Inagami, T., Wright, J.W., and Unger, T. (2000). International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 52, 415-472.

de Simone, G., Daniels, S.R., Kimball, T.R., Roman, M.J., Romano, C., Chinali, M., Galderisi, M., and Devereux, R.B. (2005). Evaluation of concentric left ventricular geometry in humans: evidence for age-related systematic underestimation. *Hypertension* 45, 64-68.

de Simone, G., Kitzman, D.W., Palmieri, V., Liu, J.E., Oberman, A., Hopkins, P.N., Bella, J.N., Rao, D.C., Arnett, D.K., and Devereux, R.B. (2004). Association of inappropriate left ventricular mass with systolic and diastolic dysfunction: the HyperGEN study. *Am J Hypertens* 17, 828-833.

De Windt, L.J., Lim, H.W., Haq, S., Force, T., and Molkentin, J.D. (2000). Calcineurin promotes protein kinase C and c-Jun NH2-terminal kinase activation in the heart. Cross-talk between cardiac hypertrophic signaling pathways. *J Biol Chem* 275, 13571-13579.

Deblois, D., Tea, B.S., Beaudry, D., and Hamet, P. (2005). Regulation of therapeutic apoptosis: a potential target in controlling hypertensive organ damage. *Can J Physiol Pharmacol* 83, 29-41.

Dhingra, S., Sharma, A.K., Singla, D.K., and Singal, P.K. (2007). p38 and ERK1/2 MAPKs mediate the interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress and cardiac myocyte apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293, H3524-3531.

Dibbs, Z.I., Diwan, A., Nemoto, S., DeFreitas, G., Abdellatif, M., Carabello, B.A., Spinale, F.G., Feuerstein, G., Sivasubramanian, N., and Mann, D.L. (2003). Targeted

overexpression of transmembrane tumor necrosis factor provokes a concentric cardiac hypertrophic phenotype. *Circulation* 108, 1002-1008.

Docherty, J.R. (1998). Subtypes of functional alpha1- and alpha2-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* 361, 1-15.

Dorffel, Y., Latsch, C., Stuhlmuller, B., Schreiber, S., Scholze, S., Burmester, G.R., and Scholze, J. (1999). Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension* 34, 113-117.

Dorn, G.W., 2nd, Robbins, J., and Sugden, P.H. (2003). Phenotyping hypertrophy: eschew obfuscation. *Circ Res* 92, 1171-1175.

Dostal, D.E., Booz, G.W., and Baker, K.M. (2000). Regulation of angiotensinogen gene expression and protein in neonatal rat cardiac fibroblasts by glucocorticoid and beta-adrenergic stimulation. *Basic Res Cardiol* 95, 485-490.

Dugina, V., Alexandrova, A., Chaponnier, C., Vasiliev, J., and Gabbiani, G. (1998). Rat fibroblasts cultured from various organs exhibit differences in alpha-smooth muscle actin expression, cytoskeletal pattern, and adhesive structure organization. *Exp Cell Res* 238, 481-490.

Egan, J.A., and Filer, C.N. (2003). Tritium labelling and characterization of the potent imidazoline II receptor antagonist [5,7-3H] (+/-)-efaroxan at high specific activity. *Appl Radiat Isot* 58, 675-677.

El-Ayoubi, R., Gutkowska, J., Regunathan, S., and Mukaddam-Daher, S. (2002). Imidazoline receptors in the heart: characterization, distribution, and regulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 39, 875-883.

El-Ayoubi, R., Menaouar, A., Gutkowska, J., and Mukaddam-Daher, S. (2004). Imidazoline receptors but not alpha 2-adrenoceptors are regulated in spontaneously hypertensive rat heart by chronic moxonidine treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 310, 446-451.

El-Ayoubi, R., Menaouar, A., Gutkowska, J., and Mukaddam-Daher, S. (2005). Urinary responses to acute moxonidine are inhibited by natriuretic peptide receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 145, 50-56.

Engel, D., Peshock, R., Armstong, R.C., Sivasubramanian, N., and Mann, D.L. (2004). Cardiac myocyte apoptosis provokes adverse cardiac remodeling in transgenic mice with targeted TNF overexpression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287, H1303-1311.

Erdogan, D., Yildirim, I., Ciftci, O., Ozer, I., Caliskan, M., Gullu, H., and Muderrisoglu, H. (2007). Effects of normal blood pressure, prehypertension, and hypertension on coronary microvascular function. *Circulation* 115, 593-599.

- Ernsberger, P., Damon, T.H., Graff, L.M., Schafer, S.G., and Christen, M.O. (1993). Moxonidine, a centrally acting antihypertensive agent, is a selective ligand for I1-imidazoline sites. *J Pharmacol Exp Ther* 264, 172-182.
- Esler, M., Lux, A., Jennings, G., Hastings, J., Socratous, F., and Lambert, G. (2004). Rilmenidine sympatholytic activity preserves mental stress, orthostatic sympathetic responses and adrenaline secretion. *J Hypertens* 22, 1529-1534.
- Esler, M., Straznicky, N., Eikelis, N., Masuo, K., Lambert, G., and Lambert, E. (2006). Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension. *Hypertension* 48, 787-796.
- Fan, G.C., Yuan, Q., Song, G., Wang, Y., Chen, G., Qian, J., Zhou, X., Lee, Y.J., Ashraf, M., and Kranias, E.G. (2006). Small heat-shock protein Hsp20 attenuates beta-agonist-mediated cardiac remodeling through apoptosis signal-regulating kinase 1. *Circ Res* 99, 1233-1242.
- Fischer, P., and Hilfiker-Kleiner, D. (2007). Survival pathways in hypertrophy and heart failure: the gp130-STAT3 axis. *Basic Res Cardiol* 102, 279-297.
- Fisher, S.A., and Absher, M. (1995). Norepinephrine and ANG II stimulate secretion of TGF-beta by neonatal rat cardiac fibroblasts in vitro. *Am J Physiol* 268, C910-917.
- Fotheringham, J.A., Mayne, M.B., Grant, J.A., and Geiger, J.D. (2004). Activation of adenosine receptors inhibits tumor necrosis factor-alpha release by decreasing TNF-alpha mRNA stability and p38 activity. *Eur J Pharmacol* 497, 87-95.
- Frishman, W., and Silverman, R. (1979). Clinical pharmacology of the new beta-adrenergic blocking drugs. Part 2. Physiologic and metabolic effects. *Am Heart J* 97, 797-807.
- Fujio, Y., Nguyen, T., Wencker, D., Kitsis, R.N., and Walsh, K. (2000). Akt promotes survival of cardiomyocytes in vitro and protects against ischemia-reperfusion injury in mouse heart. *Circulation* 101, 660-667.
- Garrett, B.N., and Kaplan, N.M. (1980). Plasma renin activity suppression: duration after withdrawal from beta-adrenergic blockade. *Arch Intern Med* 140, 1316-1318.
- Greenwood, J.P., Scott, E.M., Stoker, J.B., and Mary, D.A. (2000). Chronic I(1)-imidazoline agonism : sympathetic mechanisms in hypertension. *Hypertension* 35, 1264-1269.
- Gustafsson, A.B., and Brunton, L.L. (2000). beta-adrenergic stimulation of rat cardiac fibroblasts enhances induction of nitric-oxide synthase by interleukin-1beta via message stabilization. *Mol Pharmacol* 58, 1470-1478.

- Guyenet, P.G. (2006). The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci* 7, 335-346.
- Hadcock, J.R., and Malbon, C.C. (1993). Agonist regulation of gene expression of adrenergic receptors and G proteins. *J Neurochem* 60, 1-9.
- Hamid, T., Gu, Y., Ortines, R.V., Bhattacharya, C., Wang, G., Xuan, Y.T., and Prabhu, S.D. (2009). Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: role of nuclear factor-kappaB and inflammatory activation. *Circulation* 119, 1386-1397.
- Hardt, S.E., and Sadoshima, J. (2002). Glycogen synthase kinase-3beta: a novel regulator of cardiac hypertrophy and development. *Circ Res* 90, 1055-1063.
- Haudek, S.B., Taffet, G.E., Schneider, M.D., and Mann, D.L. (2007). TNF provokes cardiomyocyte apoptosis and cardiac remodeling through activation of multiple cell death pathways. *J Clin Invest* 117, 2692-2701.
- Haxhiu, M.A., Dreshaj, I., Schafer, S.G., and Ernsberger, P. (1994). Selective antihypertensive action of moxonidine is mediated mainly by I1-imidazoline receptors in the rostral ventrolateral medulla. *J Cardiovasc Pharmacol* 24 Suppl 1, S1-8.
- Henriksen, P.A., and Newby, D.E. (2003). Therapeutic inhibition of tumour necrosis factor alpha in patients with heart failure: cooling an inflamed heart. *Heart* 89, 14-18.
- Hieble, J.P., and Ruffolo, R.R., Jr. (1992). Imidazoline receptors: historical perspective. *Fundam Clin Pharmacol* 6 Suppl 1, 7S-13S.
- Hilgers, K.F., Hilgenfeldt, U., Veelken, R., Muley, T., Ganten, D., Luft, F.C., and Mann, J.F. (1993). Angiotensinogen is cleaved to angiotensin in isolated rat blood vessels. *Hypertension* 21, 1030-1034.
- Hinglais, N., Heudes, D., Nicoletti, A., Mandet, C., Laurent, M., Bariety, J., and Michel, J.B. (1994). Colocalization of myocardial fibrosis and inflammatory cells in rats. *Lab Invest* 70, 286-294.
- Hirota, H., Yoshida, K., Kishimoto, T., and Taga, T. (1995). Continuous activation of gp130, a signal-transducing receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 4862-4866.
- Ho, Y.L., Wu, C.C., Lin, L.C., Huang, C.H., Chen, W.J., Chen, M.F., Liao, C.S., and Lee, Y.T. (1998). Assessment of the coronary artery disease and systolic dysfunction in hypertensive patients with the dobutamine-atropine stress echocardiography: effect of the left ventricular hypertrophy. *Cardiology* 89, 52-58.

Hoshijima, M., Sah, V.P., Wang, Y., Chien, K.R., and Brown, J.H. (1998). The low molecular weight GTPase Rho regulates myofibril formation and organization in neonatal rat ventricular myocytes. Involvement of Rho kinase. *J Biol Chem* 273, 7725-7730.

Hunter, J.J., Tanaka, N., Rockman, H.A., Ross, J., Jr., and Chien, K.R. (1995). Ventricular expression of a MLC-2v-ras fusion gene induces cardiac hypertrophy and selective diastolic dysfunction in transgenic mice. *J Biol Chem* 270, 23173-23178.

Ing, D.J., Zang, J., Dzau, V.J., Webster, K.A., and Bishopric, N.H. (1999). Modulation of cytokine-induced cardiac myocyte apoptosis by nitric oxide, Bak, and Bcl-x. *Circ Res* 84, 21-33.

Irukayama-Tomobe, Y., Miyauchi, T., Sakai, S., Kasuya, Y., Ogata, T., Takanashi, M., Iemitsu, M., Sudo, T., Goto, K., and Yamaguchi, I. (2004). Endothelin-1-induced cardiac hypertrophy is inhibited by activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α partly via blockade of c-Jun NH₂-terminal kinase pathway. *Circulation* 109, 904-910.

Iwai-Kanai, E., Hasegawa, K., Araki, M., Kakita, T., Morimoto, T., and Sasayama, S. (1999). α - and β -adrenergic pathways differentially regulate cell type-specific apoptosis in rat cardiac myocytes. *Circulation* 100, 305-311.

Iwami, K., Ashizawa, N., Do, Y.S., Graf, K., and Hsueh, W.A. (1996). Comparison of ANG II with other growth factors on Egr-1 and matrix gene expression in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol* 270, H2100-2107.

Jacobs, M., Staufenberger, S., Gergs, U., Meuter, K., Brandstatter, K., Hafner, M., Ertl, G., and Schorb, W. (1999). Tumor necrosis factor- α at acute myocardial infarction in rats and effects on cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol* 31, 1949-1959.

Jaffre, F., Callebort, J., Sarre, A., Etienne, N., Nebigil, C.G., Launay, J.M., Maroteaux, L., and Monassier, L. (2004). Involvement of the serotonin 5-HT_{2B} receptor in cardiac hypertrophy linked to sympathetic stimulation: control of interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α cytokine production by ventricular fibroblasts. *Circulation* 110, 969-974.

Jain, K.S., Bariwal, J.B., Kathiravan, M.K., Phoujdar, M.S., Sahne, R.S., Chauhan, B.S., Shah, A.K., and Yadav, M.R. (2008). Recent advances in selective α 1-adrenoreceptor antagonists as antihypertensive agents. *Bioorg Med Chem* 16, 4759-4800.

Janczewski, A.M., Kadokami, T., Lemster, B., Frye, C.S., McTiernan, C.F., and Feldman, A.M. (2003). Morphological and functional changes in cardiac myocytes isolated from mice overexpressing TNF- α . *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284, H960-969.

Julius, S. (1991). Autonomic nervous dysfunction in essential hypertension. *Diabetes Care* 14, 249-259.

- Kaden, J.J., and Haghi, D. (2008). Hypertension in aortic valve stenosis--a Trojan horse. *Eur Heart J* 29, 1934-1935.
- Kannel, W.B. (1985). Lipids, diabetes, and coronary heart disease: insights from the Framingham Study. *Am Heart J* 110, 1100-1107.
- Kannel, W.B. (1989). An integrated view of hypertension. *J Hum Hypertens* 3 Suppl 2, 3-8.
- Kirch, W., Hutt, H.J., and Planitz, V. (1990). Pharmacodynamic action and pharmacokinetics of moxonidine after single oral administration in hypertension patients. *J Clin Pharmacol* 30, 1088-1095.
- Kokkinos, P., Pittaras, A., Narayan, P., Faselis, C., Singh, S., and Manolis, A. (2007). Exercise capacity and blood pressure associations with left ventricular mass in prehypertensive individuals. *Hypertension* 49, 55-61.
- Komuro, I., and Yazaki, Y. (1993). Control of cardiac gene expression by mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 55, 55-75.
- Koudssi, F., Lopez, J.E., Villegas, S., and Long, C.S. (1998). Cardiac fibroblasts arrest at the G1/S restriction point in response to interleukin (IL)-1beta. Evidence for IL-1beta-induced hypophosphorylation of the retinoblastoma protein. *J Biol Chem* 273, 25796-25803.
- Kshirsagar, A.V., Carpenter, M., Bang, H., Wyatt, S.B., and Colindres, R.E. (2006). Blood pressure usually considered normal is associated with an elevated risk of cardiovascular disease. *Am J Med* 119, 133-141.
- Kubota, T., McTiernan, C.F., Frye, C.S., Demetris, A.J., and Feldman, A.M. (1997). Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes lethal myocarditis in transgenic mice. *J Card Fail* 3, 117-124.
- Kumar, A., Paladugu, B., Mensing, J., and Parrillo, J.E. (2007a). Nitric oxide-dependent and -independent mechanisms are involved in TNF-alpha -induced depression of cardiac myocyte contractility. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292, R1900-1906.
- Kumar, R., Singh, V.P., and Baker, K.M. (2007b). The intracellular renin-angiotensin system: a new paradigm. *Trends Endocrinol Metab* 18, 208-214.
- Kumar, S., Seth, S., Jaiswal, A., Enjamoori, R., Dinda, A.K., Ray, R., and Maulik, S.K. (2009). Chronic beta-adrenergic activation-induced left ventricular systolic dysfunction is associated with systemic release of TNF-alpha and IL-1-beta in rats. *Pharmacol Rep* 61, 870-876.
- Kuster, G.M., Pimentel, D.R., Adachi, T., Ido, Y., Brenner, D.A., Cohen, R.A., Liao, R., Siwik, D.A., and Colucci, W.S. (2005). Alpha-adrenergic receptor-stimulated hypertrophy

in adult rat ventricular myocytes is mediated via thioredoxin-1-sensitive oxidative modification of thiols on Ras. *Circulation* 111, 1192-1198.

Kuwahara, F., Kai, H., Tokuda, K., Takeya, M., Takeshita, A., Egashira, K., and Imaizumi, T. (2004). Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation? *Hypertension* 43, 739-745.

LaMorte, V.J., Thorburn, J., Absher, D., Spiegel, A., Brown, J.H., Chien, K.R., Feramisco, J.R., and Knowlton, K.U. (1994). Gq- and ras-dependent pathways mediate hypertrophy of neonatal rat ventricular myocytes following alpha 1-adrenergic stimulation. *J Biol Chem* 269, 13490-13496.

Leicht, M., Briest, W., and Zimmer, H.G. (2003). Regulation of norepinephrine-induced proliferation in cardiac fibroblasts by interleukin-6 and p42/p44 mitogen activated protein kinase. *Mol Cell Biochem* 243, 65-72.

Leier, C.V., Binkley, P.F., and Cody, R.J. (1990). Alpha-adrenergic component of the sympathetic nervous system in congestive heart failure. *Circulation* 82, 168-76.

Levick, S.P., McLarty, J.L., Murray, D.B., Freeman, R.M., Carver, W.E., and Brower, G.L. (2009). Cardiac mast cells mediate left ventricular fibrosis in the hypertensive rat heart. *Hypertension* 53, 1041-1047.

Lezoualc'h, F., Metrich, M., Hmitou, I., Duquesnes, N., and Morel, E. (2008). Small GTP-binding proteins and their regulators in cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 44, 623-632.

Liang, Q., Elson, A.C., and Gerdes, A.M. (2006). p38 MAP kinase activity is correlated with angiotensin II type 1 receptor blocker-induced left ventricular reverse remodeling in spontaneously hypertensive heart failure rats. *J Card Fail* 12, 479-486.

Liao, P., Georgakopoulos, D., Kovacs, A., Zheng, M., Lerner, D., Pu, H., Saffitz, J., Chien, K., Xiao, R.P., Kass, D.A., *et al.* (2001). The in vivo role of p38 MAP kinases in cardiac remodeling and restrictive cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 12283-12288.

Lopez, N., Varo, N., Diez, J., and Fortuno, M.A. (2007). Loss of myocardial LIF receptor in experimental heart failure reduces cardiotrophin-1 cytoprotection. A role for neurohumoral agonists? *Cardiovasc Res* 75, 536-545.

Maass, D.L., White, J., and Horton, J.W. (2002). IL-1beta and IL-6 act synergistically with TNF-alpha to alter cardiac contractile function after burn trauma. *Shock* 18, 360-366.

Macphree, G.J., Howie, C.A., Elliott, H.L., and Reid, J.L. (1992). A comparison of the haemodynamic and behavioural effects of moxonidine and clonidine in normotensive subjects. *Br J Clin Pharmacol* 33, 261-267.

- Mall, G., Greber, D., Gharenbaghi, H., Wiest, G., Amann, K., and Mattfeldt, T. (1991). Effects of nifedipine and moxonidine on cardiac structure in spontaneously hypertensive rats (SHR)--stereological studies on myocytes, capillaries, arteries, and cardiac interstitium. *Basic Res Cardiol* 86 Suppl 3, 33-44.
- Mann, D.L., Kent, R.L., Parsons, B., and Cooper, G.t. (1992). Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte. *Circulation* 85, 790-804.
- Marian, A.J. (2006). Beta-adrenergic receptors signaling and heart failure in mice, rabbits and humans. *J Mol Cell Cardiol* 41, 11-13.
- Melendez, G.C., McLarty, J.L., Levick, S.P., Du, Y., Janicki, J.S., and Brower, G.L. (2010). Interleukin 6 mediates myocardial fibrosis, concentric hypertrophy, and diastolic dysfunction in rats. *Hypertension* 56, 225-231.
- Menaouar, A., El-Ayoubi, R., Jankowski, M., Gutkowska, J., and Mukaddam-Daher, S. (2002). Chronic imidazoline receptor activation in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 15, 803-808.
- Meszaros, J.G., Gonzalez, A.M., Endo-Mochizuki, Y., Villegas, S., Villarreal, F., and Brunton, L.L. (2000). Identification of G protein-coupled signaling pathways in cardiac fibroblasts: cross talk between G(q) and G(s). *Am J Physiol Cell Physiol* 278, C154-162.
- Minamino, T., Yujiri, T., Terada, N., Taffet, G.E., Michael, L.H., Johnson, G.L., and Schneider, M.D. (2002). MEKK1 is essential for cardiac hypertrophy and dysfunction induced by Gq. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 3866-3871.
- Mitchell, M.D., Laird, R.E., Brown, R.D., and Long, C.S. (2007). IL-1beta stimulates rat cardiac fibroblast migration via MAP kinase pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292, H1139-1147.
- Mitrovic, V., Patyna, W., Huting, J., and Schlepper, M. (1991). Hemodynamic and neurohumoral effects of moxonidine in patients with essential hypertension. *Cardiovasc Drugs Ther* 5, 967-972.
- Molkentin, J.D., and Dorn, G.W., 2nd (2001). Cytoplasmic signaling pathways that regulate cardiac hypertrophy. *Annu Rev Physiol* 63, 391-426.
- Monden, Y., Kubota, T., Inoue, T., Tsutsumi, T., Kawano, S., Ide, T., Tsutsui, H., and Sunagawa, K. (2007). Tumor necrosis factor-alpha is toxic via receptor 1 and protective via receptor 2 in a murine model of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293, H743-753.
- Morisco, C., Zebrowski, D., Condorelli, G., Tschlis, P., Vatner, S.F., and Sadoshima, J. (2000). The Akt-glycogen synthase kinase 3beta pathway regulates transcription of atrial

natriuretic factor induced by beta-adrenergic receptor stimulation in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 275, 14466-14475.

Morisco, C., Zebrowski, D.C., Vatner, D.E., Vatner, S.F., and Sadoshima, J. (2001). Beta-adrenergic cardiac hypertrophy is mediated primarily by the beta(1)-subtype in the rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 33, 561-573.

Mukaddam-Daher, S., and Gutkowska, J. (1999). The renal actions of moxonidine are mediated by atrial natriuretic peptide and involve the opioid receptors. *Ann N Y Acad Sci* 881, 385-387.

Mukaddam-Daher, S., and Gutkowska, J. (2000). Atrial natriuretic peptide is involved in renal actions of moxonidine. *Hypertension* 35, 1215-1220.

Mule, G., Nardi, E., Cottone, S., Andronico, G., Federico, M.R., Piazza, G., Volpe, V., Ferrara, D., and Cerasola, G. (2003). Relationships between ambulatory white coat effect and left ventricular mass in arterial hypertension. *Am J Hypertens* 16, 498-501.

Munk, S.A., Lai, R.K., Burke, J.E., Arasasingham, P.N., Kharlamb, A.B., Manlapaz, C.A., Padillo, E.U., Wijono, M.K., Hasson, D.W., Wheeler, L.A., *et al.* (1996). Synthesis and pharmacologic evaluation of 2-endo-amino-3-exo-isopropylbicyclo[2.2.1]heptane: a potent imidazoline1 receptor specific agent. *J Med Chem* 39, 1193-1195.

Murray, D.R., Prabhu, S.D., and Chandrasekar, B. (2000). Chronic beta-adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression. *Circulation* 101, 2338-2341.

Nadal-Ginard, B., Kajstura, J., Leri, A., and Anversa, P. (2003). Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Circ Res* 92, 139-150.

Nemoto, S., Sheng, Z., and Lin, A. (1998). Opposing effects of Jun kinase and p38 mitogen-activated protein kinases on cardiomyocyte hypertrophy. *Mol Cell Biol* 18, 3518-3526.

Nicoletti, A., Mandet, C., Challah, M., Bariety, J., and Michel, J.B. (1996). Mediators of perivascular inflammation in the left ventricle of renovascular hypertensive rats. *Cardiovasc Res* 31, 585-595.

Ninomiya, T., and Kiyohara, Y. (2007). Albuminuria and chronic kidney disease in association with the metabolic syndrome. *J Cardiometab Syndr* 2, 104-107.

Okamoto, K., and Aoki, K. (1963). Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27, 282-293.

Ono, K., Matsumori, A., Shioi, T., Furukawa, Y., and Sasayama, S. (1998). Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation* 98, 149-156.

Onusko, E. (2003). Diagnosing secondary hypertension. *Am Fam Physician* 67, 67-74.

Oudit, G.Y., Crackower, M.A., Eriksson, U., Sarao, R., Kozieradzki, I., Sasaki, T., Irie-Sasaki, J., Gidrewicz, D., Rybin, V.O., Wada, T., *et al.* (2003). Phosphoinositide 3-kinase gamma-deficient mice are protected from isoproterenol-induced heart failure. *Circulation* 108, 2147-2152.

Oudit, G.Y., Sun, H., Kerfant, B.G., Crackower, M.A., Penninger, J.M., and Backx, P.H. (2004). The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. *J Mol Cell Cardiol* 37, 449-471.

Palmer, J.N., Hartogensis, W.E., Patten, M., Fortuin, F.D., and Long, C.S. (1995). Interleukin-1 beta induces cardiac myocyte growth but inhibits cardiac fibroblast proliferation in culture. *J Clin Invest* 95, 2555-2564.

Paquette, P.A., Duguay, D., El-Ayoubi, R., Menaouar, A., Danalache, B., Gutkowska, J., DeBlois, D., and Mukaddam-Daher, S. (2008). Control of left ventricular mass by moxonidine involves reduced DNA synthesis and enhanced DNA fragmentation. *Br J Pharmacol* 153, 459-467.

Passier, R., Zeng, H., Frey, N., Naya, F.J., Nicol, R.L., McKinsey, T.A., Overbeek, P., Richardson, J.A., Grant, S.R., and Olson, E.N. (2000). CaM kinase signaling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *J Clin Invest* 105, 1395-1406.

Paul, A., Wilson, S., Belham, C.M., Robinson, C.J., Scott, P.H., Gould, G.W., and Plevin, R. (1997). Stress-activated protein kinases: activation, regulation and function. *Cell Signal* 9, 403-410.

Pavoine, C., Magne, S., Sauvadet, A., and Pecker, F. (1999). Evidence for a beta2-adrenergic/arachidonic acid pathway in ventricular cardiomyocytes. Regulation by the beta1-adrenergic/camp pathway. *J Biol Chem* 274, 628-637.

Pedersen, M.E., and Cockcroft, J.R. (2006). The latest generation of beta-blockers: new pharmacologic properties. *Curr Hypertens Rep* 8, 279-286.

Peeters, A.C., Netea, M.G., Janssen, M.C., Kullberg, B.J., Van der Meer, J.W., and Thien, T. (2001). Pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Invest* 31, 31-36.

Penner, S.B., and Smyth, D.D. (1994). Central and renal I1 imidazoline preferring receptors: two unique sites mediating natriuresis in the rat. *Cardiovasc Drugs Ther* 8 *Suppl* 1, 43-48.

Penner, S.B., and Smyth, D.D. (1995). The role of the peripheral sympathetic nervous system in the natriuresis following central administration of an I1 imidazoline agonist, moxonidine. *Br J Pharmacol* 116, 2631-2636.

Petrich, B.G., Eloff, B.C., Lerner, D.L., Kovacs, A., Saffitz, J.E., Rosenbaum, D.S., and Wang, Y. (2004). Targeted activation of c-Jun N-terminal kinase in vivo induces restrictive cardiomyopathy and conduction defects. *J Biol Chem* 279, 15330-15338.

Petrich, B.G., Liao, P., and Wang, Y. (2002). Using a gene-switch transgenic approach to dissect distinct roles of MAP kinases in heart failure. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 67, 429-437.

Petrov, V.V., Fagard, R.H., and Lijnen, P.J. (2002). Stimulation of collagen production by transforming growth factor-beta1 during differentiation of cardiac fibroblasts to myofibroblasts. *Hypertension* 39, 258-263.

Planitz, V. (1987). Comparison of moxonidine and clonidine HCl in treating patients with hypertension. *J Clin Pharmacol* 27, 46-51.

Pletcher, M.J., and Greenland, P. (2008). Coronary calcium scoring and cardiovascular risk: the SHAPE of things to come. *Arch Intern Med* 168, 1027-1028.

Porter, K.E., Turner, N.A., O'Regan, D.J., and Ball, S.G. (2004). Tumor necrosis factor alpha induces human atrial myofibroblast proliferation, invasion and MMP-9 secretion: inhibition by simvastatin. *Cardiovasc Res* 64, 507-515.

Proud, C.G. (2004). Ras, PI3-kinase and mTOR signaling in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res* 63, 403-413.

Rohini, A., Agrawal, N., Koyani, C.N., and Singh, R. (2010). Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy. *Pharmacol Res* 61, 269-280.

Rokosh, D.G., Stewart, A.F., Chang, K.C., Bailey, B.A., Karliner, J.S., Camacho, S.A., Long, C.S., and Simpson, P.C. (1996). Alpha1-adrenergic receptor subtype mRNAs are differentially regulated by alpha1-adrenergic and other hypertrophic stimuli in cardiac myocytes in culture and in vivo. Repression of alpha1B and alpha1D but induction of alpha1C. *J Biol Chem* 271, 5839-5843.

Rona, G. (1985). Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol* 17, 291-306.

Roncon-Albuquerque, R., Jr., Vasconcelos, M., Lourenco, A.P., Brandao-Nogueira, A., Teles, A., Henriques-Coelho, T., and Leite-Moreira, A.F. (2006). Acute changes of

biventricular gene expression in volume and right ventricular pressure overload. *Life Sci* 78, 2633-2642.

Rose, B.A., Force, T., and Wang, Y. (2010). Mitogen-activated protein kinase signaling in the heart: angels versus demons in a heart-breaking tale. *Physiol Rev* 90, 1507-1546.

Sadoshima, J., Jahn, L., Takahashi, T., Kulik, T.J., and Izumo, S. (1992). Molecular characterization of the stretch-induced adaptation of cultured cardiac cells. An in vitro model of load-induced cardiac hypertrophy. *J Biol Chem* 267, 10551-10560.

Salazar, N.C., Chen, J., and Rockman, H.A. (2007). Cardiac GPCRs: GPCR signaling in healthy and failing hearts. *Biochim Biophys Acta* 1768, 1006-1018.

Schlaich, M.P., Kaye, D.M., Lambert, E., Sommerville, M., Socratous, F., and Esler, M.D. (2003). Relation between cardiac sympathetic activity and hypertensive left ventricular hypertrophy. *Circulation* 108, 560-565.

Schlaich, M.P., Lambert, E., Kaye, D.M., Krozowski, Z., Campbell, D.J., Lambert, G., Hastings, J., Aggarwal, A., and Esler, M.D. (2004). Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation. *Hypertension* 43, 169-175.

Schluter, K.D., and Piper, H.M. (1999). Regulation of growth in the adult cardiomyocytes. *FASEB J* 13 Suppl, S17-22.

Schluter, K.D., Simm, A., Schafer, M., Taimor, G., and Piper, H.M. (1999). Early response kinase and PI 3-kinase activation in adult cardiomyocytes and their role in hypertrophy. *Am J Physiol* 276, H1655-1663.

Schmieder, R.E., and Messerli, F.H. (2000). Hypertension and the heart. *J Hum Hypertens* 14, 597-604.

Schulz, R., Panas, D.L., Catena, R., Moncada, S., Olley, P.M., and Lopaschuk, G.D. (1995). The role of nitric oxide in cardiac depression induced by interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha. *Br J Pharmacol* 114, 27-34.

Shan, K., Kurrelmeyer, K., Seta, Y., Wang, F., Dibbs, Z., Deswal, A., Lee-Jackson, D., and Mann, D.L. (1997). The role of cytokines in disease progression in heart failure. *Curr Opin Cardiol* 12, 218-223.

Sharma, A.M., Wagner, T., and Marsalek, P. (2004). Moxonidine in the treatment of overweight and obese patients with the metabolic syndrome: a postmarketing surveillance study. *J Hum Hypertens* 18, 669-675.

- Shimamoto, N., Goto, N., Tanabe, M., Imamoto, T., Fujiwara, S., and Hirata, M. (1982). Myocardial energy metabolism in the hypertrophied hearts of spontaneously hypertensive rats. *Basic Res Cardiol* 77, 359-357.
- Shizukuda, Y., Buttrick, P.M., Geenen, D.L., Borczuk, A.C., Kitsis, R.N., and Sonnenblick, E.H. (1998). beta-adrenergic stimulation causes cardiocyte apoptosis: influence of tachycardia and hypertrophy. *Am J Physiol* 275, H961-968.
- Simpson, P. (1983). Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha 1 adrenergic response. *J Clin Invest* 72, 732-738.
- Sipahi, I., Nicholls, S.J., Tuzcu, E.M., and Nissen, S.E. (2006). Coronary atherosclerosis can regress with very intensive statin therapy. *Cleve Clin J Med* 73, 937-944.
- Sivasubramanian, N., Coker, M.L., Kurrelmeyer, K.M., MacLellan, W.R., DeMayo, F.J., Spinale, F.G., and Mann, D.L. (2001). Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. *Circulation* 104, 826-831.
- Siwik, D.A., Chang, D.L., and Colucci, W.S. (2000). Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro. *Circ Res* 86, 1259-1265.
- Smyth, D.D., and Penner, S.B. (1999). Peripheral and central imidazoline receptor-mediated natriuresis in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 881, 344-357.
- Soeki, T., Kishimoto, I., Okumura, H., Tokudome, T., Horio, T., Mori, K., and Kangawa, K. (2005). C-type natriuretic peptide, a novel antifibrotic and antihypertrophic agent, prevents cardiac remodeling after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 45, 608-616.
- Soesanto, W., Lin, H.Y., Hu, E., Lefler, S., Litwin, S.E., Sena, S., Abel, E.D., Symons, J.D., and Jalili, T. (2009). Mammalian target of rapamycin is a critical regulator of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 54, 1321-1327.
- Stein, B., Frank, P., Schmitz, W., Scholz, H., and Thoenes, M. (1996). Endotoxin and cytokines induce direct cardiodepressive effects in mammalian cardiomyocytes via induction of nitric oxide synthase. *J Mol Cell Cardiol* 28, 1631-1639.
- Streicher, J.M., Ren, S., Herschman, H., and Wang, Y. (2010). MAPK-activated protein kinase-2 in cardiac hypertrophy and cyclooxygenase-2 regulation in heart. *Circ Res* 106, 1434-1443.
- Sugden, P.H., and Clerk, A. (1998). Cellular mechanisms of cardiac hypertrophy. *J Mol Med* 76, 725-746.
- Sun, M., Chen, M., Dawood, F., Zurawska, U., Li, J.Y., Parker, T., Kassiri, Z., Kirshenbaum, L.A., Arnold, M., Khokha, R., *et al.* (2007). Tumor necrosis factor-alpha

mediates cardiac remodeling and ventricular dysfunction after pressure overload state. *Circulation* 115, 1398-1407.

Susic, D. (2007). Cross-link breakers as a new therapeutic approach to cardiovascular disease. *Biochem Soc Trans* 35, 853-856.

Suzuki, H., Motley, E.D., Frank, G.D., Utsunomiya, H., and Eguchi, S. (2005). Recent progress in signal transduction research of the angiotensin II type-1 receptor: protein kinases, vascular dysfunction and structural requirement. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 3, 305-322.

Takeishi, Y., Ping, P., Bolli, R., Kirkpatrick, D.L., Hoit, B.D., and Walsh, R.A. (2000). Transgenic overexpression of constitutively active protein kinase C epsilon causes concentric cardiac hypertrophy. *Circ Res* 86, 1218-1223.

Taniyama, Y., Ito, M., Sato, K., Kuester, C., Veit, K., Tremp, G., Liao, R., Colucci, W.S., Ivashchenko, Y., Walsh, K., *et al.* (2005). Akt3 overexpression in the heart results in progression from adaptive to maladaptive hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 38, 375-385.

Terrell, A.M., Crisostomo, P.R., Wairiuko, G.M., Wang, M., Morrell, E.D., and Meldrum, D.R. (2006). Jak/STAT/SOCS signaling circuits and associated cytokine-mediated inflammation and hypertrophy in the heart. *Shock* 26, 226-234.

Thaik, C.M., Calderone, A., Takahashi, N., and Colucci, W.S. (1995). Interleukin-1 beta modulates the growth and phenotype of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 96, 1093-1099.

Thune, J.J., Signorovitch, J., Kober, L., Velazquez, E.J., McMurray, J.J., Califf, R.M., Maggioni, A.P., Rouleau, J.L., Howlett, J., Zelenkofske, S., *et al.* (2008). Effect of antecedent hypertension and follow-up blood pressure on outcomes after high-risk myocardial infarction. *Hypertension* 51, 48-54.

Trippodo, N.C., and Frohlich, E.D. (1981). Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. *Circ Res* 48, 309-319.

Trumpp-Kallmeyer, S., Hoflack, J., Bruinvels, A., and Hibert, M. (1992). Modeling of G-protein-coupled receptors: application to dopamine, adrenaline, serotonin, acetylcholine, and mammalian opsin receptors. *J Med Chem* 35, 3448-3462.

Tsuruda, T., Jougasaki, M., Boerrigter, G., Huntley, B.K., Chen, H.H., D'Assoro, A.B., Lee, S.C., Larsen, A.M., Cataliotti, A., and Burnett, J.C., Jr. (2002). Cardiotrophin-1 stimulation of cardiac fibroblast growth: roles for glycoprotein 130/leukemia inhibitory factor receptor and the endothelin type A receptor. *Circ Res* 90, 128-134.

Turner, N.A., Mughal, R.S., Warburton, P., O'Regan, D.J., Ball, S.G., and Porter, K.E. (2007). Mechanism of TNFalpha-induced IL-1alpha, IL-1beta and IL-6 expression in

human cardiac fibroblasts: effects of statins and thiazolidinediones. *Cardiovasc Res* 76, 81-90.

Turner, N.A., Porter, K.E., Smith, W.H., White, H.L., Ball, S.G., and Balmforth, A.J. (2003). Chronic beta2-adrenergic receptor stimulation increases proliferation of human cardiac fibroblasts via an autocrine mechanism. *Cardiovasc Res* 57, 784-792.

Ueyama, T., Kawashima, S., Sakoda, T., Rikitake, Y., Ishida, T., Kawai, M., Yamashita, T., Ishido, S., Hotta, H., and Yokoyama, M. (2000). Requirement of activation of the extracellular signal-regulated kinase cascade in myocardial cell hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 32, 947-960.

Van Kerckhoven, R., van Veen, T.A., Boomsma, F., Saxena, P.R., and Schoemaker, R.G. (2000). Chronic administration of moxonidine suppresses sympathetic activation in a rat heart failure model. *Eur J Pharmacol* 397, 113-120.

Van Kerckhoven, R., van Veghel, R., Saxena, P.R., and Schoemaker, R.G. (2004). Pharmacological therapy can increase capillary density in post-infarction remodeled rat hearts. *Cardiovasc Res* 61, 620-629.

van Zwieten, P.A. (1997). Central imidazoline (I1) receptors as targets of centrally acting antihypertensives: moxonidine and rilmenidine. *J Hypertens* 15, 117-125.

van Zwieten, P.A. (1999). Centrally acting antihypertensive drugs. Present and future. *Clin Exp Hypertens* 21, 859-873.

Vasan, R.S., and Benjamin, E.J. (2001). Diastolic heart failure--no time to relax. *N Engl J Med* 344, 56-59.

Vasan, R.S., Sullivan, L.M., Roubenoff, R., Dinarello, C.A., Harris, T., Benjamin, E.J., Sawyer, D.B., Levy, D., Wilson, P.W., and D'Agostino, R.B. (2003). Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation* 107, 1486-1491.

Vatner, S.F., Vatner, D.E., and Homcy, C.J. (2000). beta-adrenergic receptor signaling: an acute compensatory adjustment-inappropriate for the chronic stress of heart failure? Insights from Gsalpha overexpression and other genetically engineered animal models. *Circ Res* 86, 502-506.

Verdecchia, P., Angeli, F., Gattobigio, R., Sardone, M., and Porcellati, C. (2005). Asymptomatic left ventricular systolic dysfunction in essential hypertension: prevalence, determinants, and prognostic value. *Hypertension* 45, 412-418.

Verdecchia, P., Reboldi, G., Gattobigio, R., Bentivoglio, M., Borgioni, C., Angeli, F., Carluccio, E., Sardone, M.G., and Porcellati, C. (2003). Atrial fibrillation in hypertension: predictors and outcome. *Hypertension* 41, 218-223.

Victor, R.G., and Shafiq, M.M. (2008). Sympathetic neural mechanisms in human hypertension. *Curr Hypertens Rep* 10, 241-247.

Wang, Y. (2001). Signal transduction in cardiac hypertrophy--dissecting compensatory versus pathological pathways utilizing a transgenic approach. *Curr Opin Pharmacol* 1, 134-140.

Wang, Y., Su, B., Sah, V.P., Brown, J.H., Han, J., and Chien, K.R. (1998). Cardiac hypertrophy induced by mitogen-activated protein kinase kinase 7, a specific activator for c-Jun NH2-terminal kinase in ventricular muscle cells. *J Biol Chem* 273, 5423-5426.

Weber, K.T., and Brilla, C.G. (1991). Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation* 83, 1849-1865.

Weber, K.T., Brilla, C.G., and Janicki, J.S. (1993). Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. *Cardiovasc Res* 27, 341-348.

Wenzel, R.R., Spieker, L., Qui, S., Shaw, S., Luscher, T.F., and Noll, G. (1998). I1-imidazoline agonist moxonidine decreases sympathetic nerve activity and blood pressure in hypertensives. *Hypertension* 32, 1022-1027.

Winer, N., Chokshi, D.S., Yoon, M.S., and Freedman, A.D. (1969). Adrenergic receptor mediation of renin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 29, 1168-1175.

Xiao, L., Pimental, D.R., Amin, J.K., Singh, K., Sawyer, D.B., and Colucci, W.S. (2001). MEK1/2-ERK1/2 mediates alpha1-adrenergic receptor-stimulated hypertrophy in adult rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 33, 779-787.

Xiao, R.P., Ji, X., and Lakatta, E.G. (1995). Functional coupling of the beta 2-adrenoceptor to a pertussis toxin-sensitive G protein in cardiac myocytes. *Mol Pharmacol* 47, 322-329.

Yamauchi-Takahara, K., and Kishimoto, T. (2000). A novel role for STAT3 in cardiac remodeling. *Trends Cardiovasc Med* 10, 298-303.

Yancy, C.W., Lopatin, M., Stevenson, L.W., De Marco, T., and Fonarow, G.C. (2006). Clinical presentation, management, and in-hospital outcomes of patients admitted with acute decompensated heart failure with preserved systolic function: a report from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE) Database. *J Am Coll Cardiol* 47, 76-84.

Yin, F., Li, P., Zheng, M., Chen, L., Xu, Q., Chen, K., Wang, Y.Y., Zhang, Y.Y., and Han, C. (2003a). Interleukin-6 family of cytokines mediates isoproterenol-induced delayed STAT3 activation in mouse heart. *J Biol Chem* 278, 21070-21075.

Yin, F., Lu, Z.Z., Han, Q.D., and Zhang, Y.Y. (2003b). [Expression of beta2-adrenergic receptor and its effect on the proliferation of neonatal rat cardiac fibroblasts]. *Sheng Li Xue Bao* 55, 251-254.

Yu, Q., Watson, R.R., Marchalonis, J.J., and Larson, D.F. (2005). A role for T lymphocytes in mediating cardiac diastolic function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289, H643-651.

Yue, P., Massie, B.M., Simpson, P.C., and Long, C.S. (1998). Cytokine expression increases in nonmyocytes from rats with postinfarction heart failure. *Am J Physiol* 275, H250-258.

Zaugg, M., Xu, W., Lucchinetti, E., Shafiq, S.A., Jamali, N.Z., and Siddiqui, M.A. (2000). Beta-adrenergic receptor subtypes differentially affect apoptosis in adult rat ventricular myocytes. *Circulation* 102, 344-350.

Zhang, M.L., Li, Z.P., and Xiao, H. (2007). [Different expressions of inflammatory cytokines in two types of cardiac hypertrophy in rats]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 39, 570-575.

Zhu, W.Z., Zheng, M., Koch, W.J., Lefkowitz, R.J., Kobilka, B.K., and Xiao, R.P. (2001). Dual modulation of cell survival and cell death by beta(2)-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 1607-1612.